

УДК 615.43.582.635.5(571.15)

ИЗУЧЕНИЕ САПОНИНОВ В ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНАХ ФЕРУЛЫ ХЕРМОНСКОЙ

© Л.М. Федосеева, Дали Балтах Башар*

Алтайский государственный медицинский университет, пр. Ленина, 40,
Барнаул, 656054 (Россия), e-mail: sus@agtu.ru, bashar09@mail.ru

Проведено исследование сапонинов подземных органов ферулы хермонской (*Ferula hermonis* Boiss.) семейство зонтичные (*Ariaceae*), произрастающей на горе Хермон в Сирии.

Сапонины широко распространены в природе, встречаются в растениях различных климатических зон и имеют широкий спектр фармакологической активности. Важные свойства сапонинов: способность регулировать водно-солевой обмен, оказывать противовоспалительное действие, снижать уровень холестерина в крови, кроме того, они обладают иммуномодулирующим, цитостатическим и цитотоксическим действием на клетки злокачественных опухолей, снижают уровень сахара в крови при сахарном диабете второго типа. Олеаноловая кислота проявляет гепатопротекторную и противовирусную активность (ВИЧ, вирус Эпштейн-Барра, вирусы гриппа А и Б). В результате проведения качественных реакций обнаружены тритерпеновые сапонины. После кислотного гидролиза в системе: кислота уксусная ледяная – кислота хлористоводородная – вода очищенная (3,5 : 1 : 5,5) методом тонкослойной хроматографии проводили разделение суммы сапонинов в системе бензол – ацетон (3 : 1). Идентифицирована олеаноловая кислота, что подтверждено методом спектофотометрии после реакции сапонинов с кислотой серной концентрированной по характерному максимуму при 310 нм, определено количественное содержание суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту, которое составило 7,27–8,49%. Таким образом, сапонины подземных частей ферулы хермонской являются перспективным объектом для дальнейших исследований.

Ключевые слова: *Ferula hermonis*, корень, сапонины, олеаноловая кислота.

Введение

Род Ферула (*Ferula*) содержит около 185 видов, которые широко применяются в народной медицине при различных заболеваниях [1]. Ферула хермонская (*Ferula hermonis* Boiss.) семейство зонтичные (*Ariaceae*) – используется на Востоке для повышения потенции, лечения заболеваний легких, сахарного диабета, обладает антиоксидантной и антимикробной активностью. Изучение химического состава корней ферулы хермонской в основном было направлено на определение сесквитерпеновых лактонов и их сложных эфиров [2–4].

Цель настоящего исследования – изучение качественного состава сапонинов в подземных органах ферулы хермонской и определение их количественного содержания.

Экспериментальная часть

Для исследования использовали подземные органы ферулы хермонской, собранные в конце августа – начале сентября 2009–2011 гг. на горе Хермон в Сирии.

Для проведения качественных реакций готовили водное извлечение в соотношении 1:10 и проводили следующие реакции: реакция пенообразования, реакция Лафола, с раствором свинца ацетата и др. [5].

Для подтверждения результатов качественных реакций дальнейшую идентификацию сапонинов

Федосеева Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической химии с курсом органической и токсикологической химии Дали Балтах Башар – аспирант, e-mail: bashar09@mail.ru

осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil» в различных системах растворителей: гексан – этилацетат (2 : 1), хлороформ – этилацетат (9 : 1), петролейный эфир – хлороформ – кислота уксусная (10 : 4 : 0,4), бензол –

* Автор, с которым следует вести переписку.

ацетон (3 : 1). Извлечение БАС из сырья проводили с использованием в качестве экстрагента 70% этилового спирта. Далее осуществили гидролиз для определения агликонов сапонинов: из полученного извлечения отбирали аликвоту объемом 10 мл и выпаривали досуха. Остаток растворяли в 10 мл смеси: кислота уксусная ледяная – кислота хлористоводородная – вода очищенная (3,5 : 1 : 5,5), помещали в круглодонную колбу и нагревали на водяной бане в течение 2 ч. Затем гидролизную смесь разбавляли водой очищенной в соотношении 1 : 2, выпавший осадок отделяли фильтрованием. Осадок на фильтре промывали водой очищенной, растворяли в 25 мл 95% спирта этилового.

В качестве свидетеля использовали СО кислоты олеаноловой («SIGMA Aldrich», США).

После хроматографирования влажные пластинки обработали 20% раствором серной кислоты, высушивали в сушильном шкафу в течение 8–10 мин при температуре 110 °С. Зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы и СО должны иметь окраску розово-вишневого цвета, переходящую в голубой [6, 7].

Определение содержания суммы тритерпеновых сапонинов проводили спектрофотометрическим методом после реакции взаимодействия с концентрированной серной кислотой. Тритерпеноиды протонируются по двойной связи с образованием карбокатиона, а при наличии карбоксильной группы при С-28 имеет место последующая лактонизация. При этом наблюдается характерный максимум поглощения при 310 нм [8].

Для проведения СФМ готовили извлечение следующим образом: около 2,0 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу вместимостью 250 мл, пятикратно экстрагировали 70% этиловым спиртом порциями по 50 мл на кипящей водяной бане в круглодонной колбе на 200 мл с обратным холодильником. Полученные извлечения фильтровали и объединяли в мерную колбу на 250 мл, недостающий объем восполняли экстрагентом (раствор А). Далее из полученного извлечения отбирали аликвоту объемом 10 мл и выпаривали досуха. Гидролиз проводили по методике, описанной выше. Осадок на фильтре промывали очищенной водой, растворяли в 25 мл 95% спирта этилового и собирали в мерную колбу на 25 мл (раствор Б).

К 1 мл полученного раствора Б прибавляли 4 мл очищенной серной кислоты, выдерживали 10 мин и определяли оптическую плотность на спектрофотометре VARIAN CARY – 50 в кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм в области 220–450 нм. Раствор сравнения – концентрированная серная кислота.

Параллельно снимали оптическую плотность стандартного раствора кислоты олеаноловой.

Приготовление стандартного раствора кислоты олеаноловой: 0,004 г кислоты олеаноловой растворяли в 10 мл 95% этилового спирта.

Полученные результаты обрабатывали с использованием параметрического критерия Стьюдента согласно ГФ XI [9].

Обсуждение результатов

Качественные реакции на сапонины дали положительные результаты на наличие тритерпеноидных сапонинов в корнях ферулы хермонской (табл. 1).

Результаты качественных реакций подтверждены методом ТСХ в системе бензол – ацетон (3 : 1). После хроматографирования спиртового извлечения появилось 4 пятна голубовато-фиолетового цвета со значениями R_f : 0,58; 0,66; 0,75; 0,83. Извлечение после гидролиза имело одно пятно, совпадающее по окраске (розово-вишневое, переходящее в голубой), и значению R_f (0,5) со стандартом олеаноловой кислоты (табл. 2).

Далее проводили спектрофотометрию. Тритерпеновые сапонины идентифицировали по характерному максимуму при 310 нм. Полученные спектры сапонинов и стандарта олеаноловой кислоты после их реакции с концентрированной серной кислотой представлены на рисунке. Количественное содержание суммы сапонинов рассчитывали по закону Бугера-Ламберта-Бера в пересчете на олеаноловую кислоту (табл. 3).

Таблица 1. Результаты качественных реакций сапонинов в корнях ферулы хермонской

№ п/п	Реакция	Извлечение / результат
1	Реакция пенообразования с растворами гидроксида натрия и хлористоводородной кислотой	Образуется пена, равная по объему и стойкости
2	Реакция с раствором свинца ацетата 10%	Творожистый осадок
3	Реакция Лафона	Коричнево-зеленый осадок
4	Реакция с раствором нитрита натрия 10%	Окрашивания не наблюдалось
5	Реакция со спиртовым раствором холестерина 1%	Бежевый осадок

Таблица 2. Результаты идентификации сапонинов в корнях ферулы хермонской методом ТСХ в системе бензол – ацетон (3 : 1) до и после гидролиза

Значение R _f	Спиртовое извлечение	Спиртовое извлечение после гидролиза	Кислота олеаноловая
0,83 ± 0,01	Голубовато-фиолетовый	–	–
0,75 ± 0,01	Голубовато-фиолетовый	–	–
0,66 ± 0,01	Голубовато-фиолетовый	–	–
0,58 ± 0,01	Голубовато-фиолетовый	–	–
0,50 ± 0,01	–	Розово-вишневый, переходящий в голубой	Розово-вишневый, переходящий в голубой

Спектры поглощения сапонинов и олеаноловой кислоты в корнях ферулы хермонской: 1 – сапонины после гидролиза; 2 – олеаноловая кислота

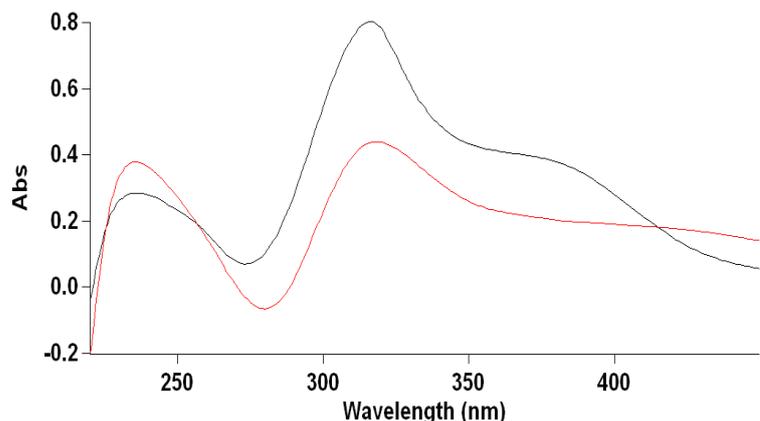


Таблица 3. Результаты определения суммы сапонинов в корнях ферулы хермонской в пересчете на олеаноловую кислоту

Год сбора сырья	Содержание сапонинов, %	Метрологические характеристики (n = 5, P = 95%, t _p = 2,78)	
		S \bar{x}	E, %
2009	7,27 ± 0,13	0,0586	2,23
2010	7,34 ± 0,14	0,0652	2,47
2011	8,49 ± 0,14	0,0630	2,06

В результате проведения количественного определения содержания суммы сапонинов в корнях ферулы хермонской, установлено, что в пересчете на олеаноловую кислоту оно составило 7,27–8,49%.

Выводы

В результате проведенных исследований подземных органов ферулы хермонской обнаружили наличие сапонинов тритерпеновой группы.

Методом ТСХ и спектрофотометрии идентифицировали олеаноловую кислоту.

Количественное содержание суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту составило 7,27–8,49%.

Список литературы

1. Pimenov M.G., Leonov M.V. The Asian Apiaceae biodiversity database (ASIUM) with particular reference to south-west Asian taxa // Turkish journal of botany. Turkey, 2004. Vol. 6. Pp. 139–145.
2. Auzi A. A., Gray A.I., Salem M.M., Badwan A.A., Sarker S.D. Feruhermonins A–C: three daucane esters from the seeds of *Ferula hermonis* (Apiaceae) // Journal of Asian Natural products Research. China; Japan; Korea and India. 2008. Vol. 10. Pp. 701–707.
3. Abourashed E.A., Galal A.M., El-Ferally F.S., Khan I.A. Separation and quantification of the major daucane esters of *Ferula hermonis* by HPLC // Planta Medica. 2001. Vol. 67. Pp. 681–682.
4. Diab Y., Dolmazon R., Bessie're JM. Daucane aryl esters composition from the Lebanese *Ferula hermonis* Boiss (zallooh root) // Flavour and Fragrance Journal 2001. Vol. 16. Pp. 120–122.
5. Ковалев В.Н., Попова Н.В., Кисличенко В.С. и др. Практикум по фармакогнозии: учебное пособие для вузов. Харьков, 2004. 512 с.

6. Евтушенко Н.С., Багирова В.Л., Шлянкевич А.М. Исследование хроматографического поведения моно- и бичиклических терпеноидов с целью выбора оптимальных условий хроматографирования препаратов их содержащих // Современные методы анализа фармацевтических препаратов: сб. науч. тр. ВНИИФ. М., 1988. Т. 26. С. 76–81.
7. Сур С.В. Методы выделения, идентификации и определения терпеновых соединений // Химико-фармацевтический журнал. 1990. №5. С. 45–50.
8. Писарев Д.И., Мартынова Н.А., Нетребенко Н.Н., Новиков О.О., Сорокопудов В.Н. Сапонины и их определение в корневищах аралии маньчжурской в условиях Белгородской области // Химия растительного сырья. 2009. №4. С. 197–198.
9. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. М., 1987. 334 с.

Поступило в редакцию 18 октября 2013 г.

После переработки 12 марта 2015 г.

*Fedosееva L.M., Dali Baltah Bashar**. STUDY OF SAPONINS IN ROOTS OF FERULA HERMONIS

Altaï State Medical University, pr. Lenina, 40, Barnaul, 656054 (Russia), e-mail: sus@agmu.ru, bashar09@mail.ru

The study of saponins from *Ferula hermonis* roots, belongs to the family Umbelliferae, growing on Mount Hermon in Syria, was undertaken. Saponins widely distributed in nature, encountered in plants of different climatic zones and have a wide range of pharmacological effects. Important properties of saponins: the ability to regulate water-salt metabolism, has Anti-inflammatory effect, reduce blood cholesterol levels, moreover, they possess immunomodulatory, cytostatic and cytotoxic effects on malignant tumor cells, reduce blood *glucose* levels in diabetes mellitus type 2. Oleanolic acid manifests hepatoprotective and antiviral activity (HIV, Epstein-Barr virus, influenza viruses A and B).

As a result of qualitative reactions, was detected a existence of triterpene saponins. Then, after acid hydrolysis in: glacial acetic acid – hydrochloric acid – Purified water (3,5 : 1 : 5,5), using the method of thin layer chromatography, separation of saponins was carried out in the benzene-acetone (3 : 1), Oleanolic acid was identified. Results were confirmed by Spectrophotometry, after a reaction of saponins with concentrated sulfuric acid, by the characteristic maximum at 310 nm, the quantity of the content of saponins was defined, equivalent to oleanolic acid is equaled 7,27–8,49%.

Thus, saponins underground part of the *Ferula hermonis* is a promising target for future research.

Keywords: *Ferula hermonis*, root, saponin, oleanolic acid.

References

1. Pimenov M.G., Leonov M.V. *Turkish journal of botany*. 2004, vol. 6, pp. 139–145.
2. Auzi A. A., Gray A.I., Salem M.M., Badwan A.A., Sarker S.D. *Journal of Asian Natural products Research*. 2008, vol. 10, pp. 701–707.
3. Abourashed E.A., Galal A.M., El-Feraly F.S., Khan I.A. *Planta Medica*. 2001, vol. 67, pp. 681–682.
4. Diab Y., Dolmazon R., Bessie're JM. *Flavour and Fragrance Journal*, 2001, vol. 16, pp. 120–122.
5. Kovalev V.N., Popova N.V., Kislichenko V.S. i dr. *Praktikum po farmakognozii. Uchebnoe posobie dlja VUZov*. [Workshop on pharmacognosy. Textbook for High Schools]. Har'kov, 2004, 512 p. (in Russ.).
6. Evtushenko N.S., Bagirova V.L., Shljankevich A.M. *Sovremennye metody analiza farmacevticheskikh preparatov: sbornik nauchnykh trudov VNIIF*. [Modern methods of analysis of pharmaceuticals: collection of scientific papers VNIIFK]. Moscow, 1988, vol. 26, pp. 76–81. (in Russ.).
7. Sur S.V. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal*, 1990, no. 5, pp. 45–50. (in Russ.).
8. Pisarev D.I., Martynova N.A., Netrebenco N.N., Novikov O.O., Sorokopudov V.N. *Himija Rastitel'nogo Syr'ja*. 2009, no. 4, pp. 197–198. (in Russ.).
9. *Gosudarstvennaja farmakopeja SSSR. Vyp. 1. Obshhie metody analiza*. [The State pharmacopoeia of the USSR. Vol. 1. General analysis methods]. Moscow, 1987, 334 p. (in Russ.).

Received October 18, 2013

Revised March 12, 2015

* Corresponding author.