

УДК 615.322

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦИКЛОСИВЕРСИОЗИДА F

© М.А. Агзамова*, Р.М. Халилов, А.А. Жанибеков

*Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,
ул. Мирзо Улугбека, 77, Ташкент, 100170 (Узбекистан),
e-mail: agzamova_manzura@mail.ru*

Растение *Astragalus pteroccephalus* Bunge, произрастающее в Узбекистане, является источником тритерпеновых гликозидов. Основным гликозидом циклоартанового ряда по содержанию является циклосиверсиозид F. Разработаны оптимальные условия выделения и разделения суммы экстрактивных веществ с целью получения индивидуального гликозида. Для получения индивидуального биологически активного соединения с 95% чистотой предложена методика экстракции метанолом, концентрирование и разбавление равным объемом воды. Затем последовательное извлечение из водного экстракта хлороформом, этилацетатом и бутанолом. Далее – хроматографическое разделение очищенной суммы экстрактивных веществ на колонке с силикагелем, выделение субстанции и осаждение из системы растворителей с последующей перекристаллизацией и сушкой.

Установлена подлинность исследуемого соединения с помощью ТСХ в сравнении с аутентичным образцом. Чистоту циклосиверсиозид F подтвердили снятием спектров ЯМР ¹H и ¹³C. Методом ВЭЖХ проведен количественный анализ гликозида.

Ключевые слова: циклосиверсиозид F, астрагалозид IV, *Astragalus pteroccephalus*, *Tragacantha pteroccephala*, кардиопротектор, ТСХ, ВЭЖХ, КХ, этанол, метанол, бутанол.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Инновационного развития Республики Узбекистан по гранту № И-ФА-2019-27.

Введение

Производство субстанции лекарственных препаратов из растительного сырья является процессом трудоемким, разделенным на несколько этапов. Современный уровень медицинских и фармацевтических исследований требует получения индивидуальных природных соединений с высоким процентом чистоты, экстрагируемых из объектов животного и растительного происхождения. Поставленная задача актуальна для различных областей химии и медицины, но в большей степени – для биохимических и фармакологических исследований.

Правильный выбор метода разделения экстракта и очистки конечного продукта влияет на качество субстанции и экономические показатели технологического способа выделения.

Для достижения цели необходимо в определенной последовательности использовать комбинацию известных или новых приемов обработки. Особое значение имеют сорбенты и хроматографические методы разделения, позволяющие качественно осуществить выделение и препаративное накопление органических соединений различных классов [1].

Агзамова Манзура Адхамовна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии гликозидов, e-mail: agzamova_manzura@mail.ru

Халилов Равшанжон Муратджанович – доктор технических наук, ведущий научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: r.m.khalilov@mail.ru

Жанибеков Абдулъазиз Адилханович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: j.aziz@mail.ru

Хроматографический метод очистки биологически активных соединений – один из распространенных методов разделения суммы экстрактивных веществ с близкими химическими структурами и степени полярностей.

Astragalus pteroccephalus Bunge (*Tragacantha pteroccephala* Boriss) семейства Leguminosae – астрагал крылатоголовый (трагакант крылатоголовый) –

* Автор, с которым следует вести переписку.

произрастает на щебнистых и мелкоземистых склонах на высотах 1500–3000 м над уровнем моря. Распространен в Центральной Азии, Западном Тянь-Шане и Памиро-Алае; в Узбекистане – в Ташкентской, Ферганской, Самаркандской, Кашкадарьинской и Сурхандарьинской областях [2].

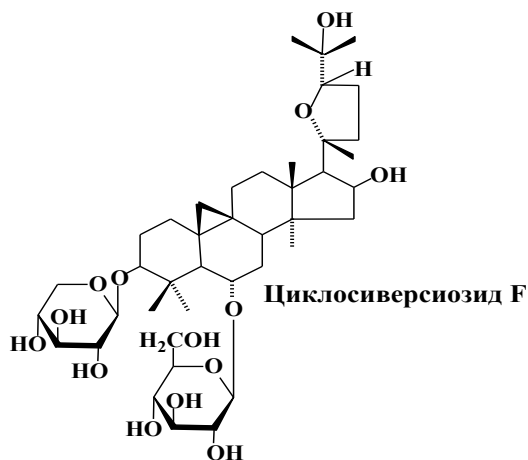


Рис. 1. Химическая структура циклосиверсиозид F (астрагалозид IV)

Циклосиверсиозид F, или астрагалозид IV – тритерпеновый гликозид циклоартанового ряда, аглюкон которого известный в литературе циклосиверсигенин. В молекуле соединения имеются два сахарных остатка в виде ксилопиранозы и глюкопиранозы, присоединенные по C-3 и C-6 соответственно (рис. 1). Гликозид встречается и был изолирован из 12 видов растений рода *Astragalus*. Наибольший выход циклосиверсиозид F отмечен в следующих видах: *A. ptercephalus*, *A. kuhitangi* (Nevski) Sirj., *A. leiosemius* (Lipsky) M.Pop и *A. pycnanthus* Boriss [3–7].

Тритерпеновые гликозиды показали ряд физиологических активностей: обладают выраженными антигипоксическими свойствами [8, 9], восстанавливают биохимические процессы в клетках миокарда. При внутривенном введении больным с застойной сердечной недостаточностью улучшают сократительную функцию

левого желудочка и замедляют частоту сердечных сокращений и *in vitro* на культуре эндотелиальных клеток пупочной вены человека, стимулируют пролиферацию и миграцию [9–11], проявляют иммуностимулирующий эффект [12].

Исследовано влияние циклосиверсиозид F на обменные процессы сердечной мышцы (углеводный, липидный, энергетический) интактных животных в сравнении с классическим метаболическим препаратом – рибоксином. Гликозид нормализует нарушения липидного обмена при атеросклерозе [13, 14], положительно влияет на метаболические процессы. Повышает энергетический пул миокарда животных (увеличение содержания гликогена, креатинфосфата, АТФ), усиливает процессы аэробноза, позитивным сдвигам со стороны липидного обмена сердечной мышцы в виде уменьшения содержания в миокарде холестерина и триглицеридов [15–19], оказывает действие на свертываемость крови в сравнении с курантилом [20].

Циклосиверсиозид F был изолирован из растения *A. ptercephalus*, который является потенциальным источником сырья для производства субстанции. Выход гликозида составил 1.45% от веса сухого растительного сырья [3, 4].

В настоящее время в Институте химии растительных веществ разрабатывается способ получения кардиопротекторного препарата из растения флоры Узбекистана.

Анализируя способы получения циклосиверсиозид F из различных видов растений рода *Astragalus* [3–7], нами сделан выбор на технологический способ получения циклосиверсиозид F из растения *A. ptercephalus*. Экстрагирование метанолом, затем концентрирование и получение густого экстракта, отгонка на роторном испарителе и разбавление остатка объемом воды. Далее последовательное извлечение из водной суммы экстрактивных веществ хлороформом, затем этилацетатом и бутанолом в системе жидкость-жидкость. Следующий этап – хроматографическое разделение на колонке с силикагелем, выделение субстанции и осаждение циклосиверсиозид F из системы растворителей: метанол-этилацетат с последующей сушкой.

Цель исследования – подбор оптимальных условий процесса проведения колоночной хроматографии на силикагели и перекристаллизации циклосиверсиозид F.

Исследование направлено на разработку технологического способа получения субстанции циклосиверсиозид F 95% чистоты.

Экспериментальная часть

Растение *A. ptercephalus* было заготовлено в августе 2019 года в Кашкадарьинской области Республики Узбекистан, бассейн реки Кашкадарья, в окрестностях села Джауз. Провели анатомо-морфологическое исследование надземных органов растения [21].

Воздушно-сухую надземную часть измельчали до размеров частиц 2–6 мм.

В экстрактор объемом 200.0 л загружали измельченное растительное сырье *A. pteroccephalus* (25 кг) и заливали 100.0 л метанола. Экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 6 ч. После экстрагирования метанольный экстракт в количестве 70.0 л сливали в сборник. В экстрактор заливали новую порцию 70.0 л метанола и проводили вторую экстракцию. Экстракцию проводили еще три раза. Объединенные сливы экстрактов отфильтровывали через нутч-фильтр, заправленный фильтром из сукна, и порциями подавали в вакуумно-циркуляционный аппарат (Simax, Чехия), где растворитель отгоняли при температуре не выше 60 °С и вакууме 0.04–0.08 МПа (0.4–0.8 кгс/см²). В вакуумный испарительный аппарат заливали 10.0 л воды и продолжали концентрирование экстракта до полного удаления метанола из раствора.

Водный концентрат в количестве 6.0 л сливали в смеситель объемом 25.0 л и сумму тритерпеновых соединений шестикратно экстрагировали бутанолом по 6.0 л. Бутанольное извлечение суммы экстрактивных веществ в количестве 36 л порциями подавали на ротационный испаритель, где упаривали экстракт до остатка в 5 л при температуре воды 50–60 °С и вакууме 0.04–0.08 МПа (0.4–0.8 кгс/см²). Густую сумму экстрактивных веществ перемешивали с 5.0 кг силикагеля, высушивали в сушильном шкафу и получили 6.25 кг сухой массы с содержанием 6.8% субстанции циклосиверсиозида F, которую разделяли на 25 порций (по 0.25 кг).

Подбор соотношения высоты сорбционного слоя к диаметру колонки. Хроматографические колонки (5 штук) различных размеров заполняли по 1.0 кг силикагеля (размер частиц 50–100 мкм, марка КСК, Чехия), варьируя соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки на уровнях: 15 : 1, 20 : 1, 25 : 1, 30 : 1, 35 : 1. Затем первые пять порций сухой суммы экстрактивных веществ по 0.25 кг загружали в хроматографические колонки, при этом соотношение сорбента к сумме тритерпеновых гликозидов составило (20 : 1). Сумму, содержащую циклосиверсиозид F, промывали системами растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4) по 1.5 л при скорости потока 25 л/ч·м². Элюат упаривали досуха и анализировали.

Подбор скорости элюирования циклосиверсиозида F. Следующие пять порций суммы экстрактивных веществ загружали в колонки (каждая колонка имела одинаковый размер: длина – 1500 мм, внутренний диаметр – 50 мм), соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки 25 : 1. Сумму тритерпеновых гликозидов промывали системой растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4) в количестве по 1.5 л при различной скорости элюирования: 30, 35, 40, 45, 50 л/ч·м². Элюаты, содержащие тритерпеновый гликозид – циклосиверсиозид F, упаривали досуха и проводили анализ количественного содержания в процентах от веса сухого сырья.

Подбор и соотношение сорбента и суммы экстрактивных веществ, наносимой в колонку. В колонку загружали силикагель и сумму экстрактивных веществ в различных весовых соотношениях: 1 : 55, 1 : 10, 1 : 15, 1 : 20, 1 : 25, далее колонку промывали со скоростью 40 л/ч·м². Элюаты, содержащие циклосиверсиозид F, упаривали досуха и анализировали выход циклосиверсиозида F в процентах от веса сухого сырья.

Подбор растворителя для перекристаллизации циклосиверсиозида F. Пять хроматографических колонок длиной 1500 мм, внутренним диаметром 50 мм заполняли по 1.0 кг силикагеля. Затем следующие пять порций по 0.25 кг сухой массы экстрактивных веществ загружали на хроматографические колонки в весовом соотношении сорбента к сумме гликозидов 15 : 1. Циклосиверсиозид F элюировали системой растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4) в количестве по 1.5 л при скорости потока 40 л/ч·м². Элюаты из каждой колонки упаривали досуха в отдельных колбах. Каждую колбу заливали по 100 мл различными системами растворителей: метанол – хлороформ (1 : 9), метанол – этилацетат (1 : 9), этанол – хлороформ (1 : 9), этанол – этилацетат (1 : 9) и пропанол-2 – этилацетат (1 : 9). В колбах с обратными холодильниками нагревали растворы на водяной бане при температуре 60 °С до полного растворения сухой субстанции (далее в тексте – технический продукт). Растворы вылили в стаканы на 200 мл и охлаждали до 10 °С. Кристаллы сушили и анализировали.

Качественный анализ циклосиверсиозида F. При проведении экспериментов по выделению гликозида подлинность циклосиверсиозида F установили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), который заключается в следующем: образец (точная навеска 1 мг) циклосиверсиозида F растворяют в 0.5 мл системе растворителей хлороформ – метанол (1 : 1). Из приготовленного раствора капилляром наносят на пластинку, покрытую силикагелем с 13% содержанием гипса. Подвижной фазой хроматограммы является система растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4). Вещество на хроматограмме проявляют опрыскиванием 20% спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты и с последующим нагреванием при 110 °С в термостате в течение 5–7 мин. Циклосиверсиозид F проявляется в виде пятна кирпично-красного цвета,

которое через некоторое время приобретает коричневый оттенок. В вышеуказанных условиях R_f составляет 0.3 (рис. 1).

Количественный анализ циклосиверсиозида F. Хроматографию проводили на ВЭЖХ-хроматографе марки Agilent 1100 с колонкой – Zorbax Eclipse XDB – C18 (внутренний диаметр – 3 мм, длина 10 см, дисперсность сорбента 3.5 μ или аналогичный). УФ-детекция при длине волны λ 205 нм. Время удерживания 23.62 мин (рис. 2).

В качестве мобильной фазы использовали растворители, приведенные в таблице 1.

Время анализа – 10 мин; скорость потока – 0.5 мл/мин; объем вводимого образца – 20 мкл.

Приготовление раствора стандартного образца циклосиверсиозида F осуществляли следующим образом: 0.01 г (точная навеска) стандартного образца циклосиверсиозида F растворяют в 10 см³ метанола при постоянном перемешивании (1 мг/мл, раствор А). Затем раствор А (2.5 см³) доводят до 25 см³ в мерной колбе, разбавляя метанолом (0.1 мг/мл, раствор В).

Содержание циклосиверсиозида F (x) в образце вычисляют по формуле

$$x = \frac{S_{sub} \cdot C_{std} \cdot P_{std}}{S_{std} \cdot C_{sub}},$$

где S_{sub} – площадь пика вещества в субстанции; S_{std} – площадь пика вещества в стандартном растворе; C_{std} – концентрация стандартного раствора (мг/мл); C_{sub} – концентрация раствора субстанции (мг/мл); P_{std} – процентное содержание стандарта.

Обсуждение результатов

При экстрагировании тритерпеноидов циклоартанового ряда из водного раствора бутанолом остаются водорастворимые примеси в водной фазе, а в органический растворитель переходят сопутствующие соединения, генины и малополярные гликозиды – циклосиверсиозиды С и Е. Наиболее рациональным способом разделения циклосиверсиозида F от других соединений с близкой химической структурой является колоночная хроматография с силикагелем.

При разделении методом колоночной хроматографии наблюдается максимальный выход циклосиверсиозида F с минимальным количеством сопутствующих веществ. В качестве элюента использована система растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4) [2–6].

Как следует из таблицы 2, при увеличении высоты сорбционного слоя выход циклосиверсиозида F уменьшается, а содержание основного действующего вещества в конечном продукте увеличивается. Таким образом, наилучший результат был получен при соотношении высоты сорбционного слоя к диаметру колонки, как 25 : 1, так как в этих условиях выход циклосиверсиозида F как основного действующего вещества наибольший.

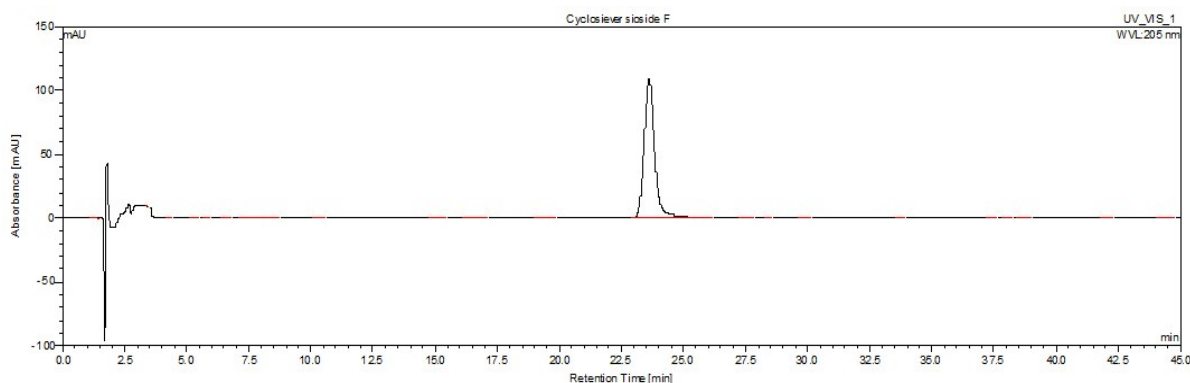


Рис. 2. ВЭЖХ-хроматограмма циклосиверсиозида F

Таблица 1. Градиент растворителей

Растворитель	Время, мин.		
	0.00	5.00	10.00
Вода, %	70	50	30
Ацетонитрил, %	30	50	70

Из экспериментальных данных, приведенных в таблице 3, следует, что разделение циклосиверсиозида F от других тритерпеноидов происходит с высоким выходом основного соединения при большей скорости элюирования. С уменьшением скорости элюирования выход субстанции увеличивается, но содержание циклосиверсиозида F уменьшается.

На основании приведенных данных для выделения циклосиверсиозида F методом колоночной хроматографии установлена оптимальная скорость элюирования в пределах 40–45 л/ч·м².

Из таблицы 4 следует, что оптимальная сорбция примесей достигается при соотношении суммы и сорбента как 1 : 15. Необходимо отметить, что увеличение количества сорбента незначительно улучшает чистоту циклосиверсиозида F.

После хроматографического разделения суммы тритерпеновых гликозидов и отгонки растворителя содержание циклосиверсиозида F в сухом остатке составляет 87–90%. Для получения соединения 95% чистоты при проведении перекристаллизации подобраны соотношения из различных растворителей (табл. 5).

В таблице 5 приведен высокий процент выхода индивидуального гликозида, циклосиверсиозида F в опытах 2 и 4, причем выход субстанции в опыте 2 больше, чем 4. Для перекристаллизации технического продукта – циклосиверсиозида F выбрана система растворителей метанол – этилацетат в соотношении (1 : 9).

Таблица 2. Влияние размеров колонки на хроматографическое разделение циклосиверсиозида F

Соотношение высоты сорбционного слоя к диаметру колонки	Выход субстанции циклосиверсиозида F, % от веса сухого сырья	Содержание циклосиверсиозида F в конечном продукте, %
15 : 1	92.2	70.3
20 : 1	91.9	74.6
25 : 1	90.6	78.7
30 : 1	88.8	78.9
35 : 1	87.1	79.4

Таблица 3. Динамика разделения циклосиверсиозида F методом колоночной хроматографии

Скорость элюирования, л/ч·м ²	Выход субстанции циклосиверсиозида F, % от веса сухого сырья	Содержание циклосиверсиозида F в конечном продукте, %
30	93.1	72.4
35	92.4	75.3
40	91.8	79.7
45	88.8	79.9
50	86.5	80.2

Таблица 4. Выход циклосиверсиозида F в зависимости от соотношения суммы к сорбенту

Соотношение суммы экстрактивных веществ к сорбенту в колонке	Выход субстанции циклосиверсиозида F %, от веса сухого сырья	Содержание циклосиверсиозида F в конечном продукте, %
1 : 5	93.8	65.4
1 : 10	93.1	73.3
1 : 15	91.6	80.7
1 : 20	89.7	80.9
1 : 25	85.3	81.2

Таблица 5. Система растворителей для перекристаллизации циклосиверсиозида F

№ опыта	Система растворителей	Выход субстанции		Содержание циклосиверсиозида F в субстанции, %
		в г	в % к весу сухого сырья	
1	Метанол – хлороформ (1 : 9)	15.4	1.54	93.2
2	Метанол – этилацетат (1 : 9)	14.5	1.45	98.6
3	Этанол – хлороформ (1 : 9)	13.3	1.33	92.4
4	Этанол – этилацетат (1 : 9)	12.0	1.20	96.5
5	Пропанол-2 – этилацетат (1 : 9)	13.9	1.39	90.5

Выводы

1. Для разделения циклосиверсиозида F методом колоночной хроматографии с силикагелем в качестве селективного элюата предложена система растворителей: хлороформ – метанол – вода (70 : 23 : 4).

2. Максимальный выход циклосиверсиозида F с минимальными затратами сорбента достигается при соотношении высоты сорбционного слоя к диаметру колонки, как (25 : 1); скорость элюирования в интервале 40–45 л/ч м²; соотношение суммы экстрактивных веществ и сорбента (1 : 15).

3. Для получения циклосиверсиозида F с 95%-ным выходом и выше необходима перекристаллизация из системы растворителей: метанола-этилацетат (1 : 9).

Благодарность старшему научному сотруднику Сасмакову С.А. в проведении ВЭЖХ-анализа.

Список литературы

1. Сухих А.С., Кузнецов П.В. Применение сорбента универсального назначения сефадекса LH-20 в современных медико-биологических исследованиях // Медицина в Кузбассе. 2009. №4. С. 3–12.
2. Коровин Е.П. Введенский А.В. Флора Узбекистана. Ташкент: АН УзССР, 1955. Т. 3. 684 с.
3. Agzamova M.A., Isaev I.M. Chemical constituents of plant *Astragalus pteroccephalus* // Chemistry of Natural Compounds. 2016. Vol. 52. Pp. 501–502. DOI: 10.1007/s10600-016-1687-3.
4. Agzamova M.A., Isaev M.I., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XIX. Cycloartane compounds and sterols from *Astragalus pamirensis* and *A. pteroccephalus* // Chemistry of Natural Compounds. 1986. Vol. 22. N1. Pp. 115–116. DOI: 10.1007/BF00574606.
5. Agzamova M.A., Isaev M.I., Mal'tsev I.I., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. XXIX. Cycloartanes of *Astragalus kuhitangi* // Chemistry of Natural Compounds. 1988. Pp. 755–756. DOI: 10.1007/BF00598208.
6. Agzamova M.A., Isaev I.M., Ibragimov T.F. Cycloartane Glycosides from *Astragalus leiosemius* // Chemistry of Natural Compounds. 2014. Vol. 50. N5. Pp. 959–960. DOI: 10.1007/s10600-014-1133-3.
7. Agzamova M.A., Isaev M.I. Cycloartane Triterpenoids from *Astragalus pycnanthus* // Hacettepe University J. of Faculty of Pharmacy. 1999. Vol. 19. N1. Pp. 45–55.
8. Zhang L., Liu Q., Lu L., Zhao X., Gao X., Wang Y. Astragaloside IV stimulates angiogenesis and increases hypoxia-inducible factor-1 α accumulation via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2011. Vol. 338. N2. Pp. 485–491. DOI: 10.1124/jpet.111.180992.
9. Luo H.M., Dai R.H., Li Y. Nuclear cardiology study on effective ingredients of *Astragalus membranaceus* in treating heart failure // Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1995. Vol. 15. Pp. 707–709.
10. Chen L.X., Liao J.Z., Guo W.Q. Effects of *Astragalus membranaceus* on left ventricular function and oxygen free radical in acute myocardial infarction patients and mechanism of its cardiotoxic action // Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1995. Vol. 15. Pp. 141–143.
11. Patent 57165400 (JP). Saponins from *Astragali* root / A. Kadota, Y. Uchida. – 1983.
12. Bedir E., Pugh N., Calis I., Pasco D.S., Khan I.A. Immunostimulatory effects of cycloartane-type triterpene glycosides from *Astragalus* species // Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2000. Vol. 23. N7. Pp. 834–837. DOI: 10.1248/bpb.23.834.
13. Царук А.В., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Агзамова М.А., Касимова Г.М. Фармакокоррекция нарушений липидного обмена у кроликов с атеросклерозом циклоартановым гликозидом циклосиверсиозидом F // Фармацевтический журнал. 2008. №1. С. 72–75.
14. Царук А.В., Хушбактова З.А., Мамедова Р.П., Сыров В.Н. Влияние циклосиверсиозида F на показатели энергетического обмена миокарда животных // Фармацевтический журнал. 2007. №4. С. 93–95.
15. Khushbaktova Z.A., Agzamova M.A., Syrov V.N. et al. Influence of cycloartanes from plants of the genus *Astragalus* and their synthetic analogs on the contractive function of the myocardium and the activity of Na,K-ATPase // Chemistry of Natural Compounds. 1994. Vol. 30. Pp. 469–473. DOI: 10.1007/BF00630402.
16. Хушбактова З.А., Сыров В.Н. Сравнительное изучение влияния циклоартановых и сердечных гликозидов на некоторые показатели метаболизма миокарда у животных // Украинский биохимический журнал. 1993. Т. 65. С. 71–75.
17. Царук А.В., Искендеров Д.А., Агзамова М.А., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Исаев М.И. Влияние и изучение циклоартановых гликозидов циклоорбикозида G и циклосиверсиозида A на метаболические процессы в миокарде крыс. // Химико-фармацевтический журнал. 2010. №1. С. 12–15.
18. Царук А.В., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Захидова Л.Т. Изменение липидного обмена миокарда крыс под действием циклосиверсиозида F в норме и условиях адреналинового миокардита. // Патология. 2007. №4. С. 21–22.
19. Царук А.В., Захидова Л.Т., Хушбактова З.А., Сыров В.Н., Исаев М.И. Фармакокоррекция циклосиверсиозидом F метаболических нарушений в сердечной мышце экспериментальных животных при стрессе // Доклады АН РУз. 2011. №2. С. 59–62.

20. Tsaruk A.V., Isaev I.M., Agzamova M.A., Vypova N.L., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Isaev M.I. A Study of the Effects of Cyclosiversioside F on the Blood Coagulation System // *Uzbek Biological Journal*. 2010. N5. Pp. 10–12. DOI: 10.1007/s11094-010-0388-7.
21. Agzamova M.A., Duschanova G.M., Rakhmatov Kh.A., Janibekov A.A. The anatomical structure of leaves and thorns plants *Astragalus pterocephalus* Bunge, growing in Uzbekistan // *American J. Planta Sciences*. 2020. Vol. 11. N4. Pp. 569–577. DOI: 10.4236/ajps.2020.114042.

Поступила в редакцию 18 августа 2020 г.

После переработки 9 февраля 2021 г.

Принята к публикации 18 февраля 2021 г.

Для цитирования: Агзамова М.А., Халилов Р.М., Жанибеков А.А. Хроматографический анализ циклосиверсиозида F // *Химия растительного сырья*. 2021. №2. С. 267–274. DOI: 10.14258/jсrgrm.2021028314.

*Agzamova M.A.**, Khalilov R.M., Janibekov A.A. CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF CYCLOSIVERSIOSIDE F
*Institute of the Chemistry of Plant Substances named after S.Yu.Yunusov Academy of Sciences, ul. M. Ulugbeka, 77,
Tashkent, 100170 (Uzbekistan), e-mail: agzamova_manzura@mail.ru*

The plants *Astragalus pterocephalus* growing in Uzbekistan are a source of triterpene glycosides. The main triterpene glycoside, in terms of content, is a cycloartan glycoside – cyclosiversioside F. To obtain an individual biologically active compound cyclosiversioside F with 95% purity, a proposed method involves extraction with methanol, concentration and dilution with an equal volume of water, then followed by a sequential extraction from the aqueous extract with chloroform, ethyl acetate and butanol.

Then a chromatographic separation of the purified amount of extractives on a column with silica gel, isolation of the substance and precipitation from a solvent system must be performed, followed by recrystallization and drying. The optimal conditions for the isolation and separation of the amount of extractive substances have been developed in order to obtain an individual glycoside.

Cyclosiversioside F was authenticated by TLC in comparison with an authentic sample. Quantitative analysis of the glycoside was carried out by HPLC. The purity of cyclosiversioside F was confirmed by taking ^1H and ^{13}C NMR spectra.

Keywords: cyclosiversioside F, astragaloside IV, *Astragalus pterocephalus*, *Tragacantha pterocephala*, cardioprotector, TLC, HPLC, CC, ethanol, methanol, butanol.

* Corresponding author.

References

1. Sukhikh A.S., Kuznetsov P.V. *Meditsina v Kuzbasse*, 2009, no. 4, pp. 3–12. (in Russ.).
2. Korovin Ye.P. Vvedenskiy A.V. *Flora Uzbekistana*. [Flora of Uzbekistan]. Tashkent, 1955, vol. 3, 684 p. (in Russ.).
3. Agzamova M.A., Isaev I.M. *Chemistry of Natural Compounds*, 2016, vol. 52, pp. 501–502. DOI: 10.1007/s10600-016-1687-3.
4. Agzamova M.A., Isaev M.I., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. *Chemistry of Natural Compounds*, 1986, vol. 22, no. 1, pp. 115–116. DOI: 10.1007/BF00574606.
5. Agzamova M.A., Isaev M.I., Mal'tsev I.I., Gorovits M.B., Abubakirov N.K. *Chemistry of Natural Compounds*, 1988, pp. 755–756. DOI: 10.1007/BF00598208.
6. Agzamova M.A., Isaev I.M., Ibragimov T.F. *Chemistry of Natural Compounds*, 2014, vol. 50, no. 5, pp. 959–960. DOI: 10.1007/s10600-014-1133-3.
7. Agzamova M.A., Isaev M.I. *Hacettepe University J. of Faculty of Pharmacy*, 1999, vol. 19, no. 1, pp. 45–55.
8. Zhang L., Liu Q., Lu L., Zhao X., Gao X., Wang Y. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2011, vol. 338, no. 2, pp. 485–491. DOI: 10.1124/jpet.111.180992.
9. Luo H.M., Dai R.H., Li Y. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 1995, vol. 15, pp. 707–709.
10. Chen L.X., Liao J.Z., Guo W.Q. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 1995, vol. 15, pp. 141–143.
11. Patent 57165400 (JP). 1983.
12. Bedir E., Pugh N., Calis I., Pasco D.S., Khan I.A. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2000, vol. 23, no. 7, pp. 834–837. DOI: 10.1248/bpb.23.834.
13. Tsaruk A.V., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Agzamova M.A., Kasimova G.M. *Farmatsevticheskiy zhurnal*, 2008, no. 1, pp. 72–75. (in Russ.).
14. Tsaruk A.V., Khushbaktova Z.A., Mamedova R.P., Syrov V.N. *Farmatsevticheskiy zhurnal*, 2007, no. 4, pp. 93–95. (in Russ.).
15. Khushbaktova Z.A., Agzamova M.A., Syrov V.N. et al. *Chemistry of Natural Compounds*, 1994, vol. 30, pp. 469–473. DOI: 10.1007/BF00630402.
16. Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal*, 1993, vol. 65, pp. 71–75. (in Russ.).
17. Tsaruk A.V., Iskenderov D.A., Agzamova M.A., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Isayev M.I. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2010, no. 1, pp. 12–15. (in Russ.).
18. Tsaruk A.V., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Zakhidova L.T. *Patologiya*, 2007, no. 4, pp. 21–22. (in Russ.).
19. Tsaruk A.V., Zakhidova L.T., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Isayev M.I. *Doklady AN RUz*, 2011, no. 2, pp. 59–62. (in Russ.).
20. Tsaruk A.V., Isaev I.M., Agzamova M.A., Vypova N.L., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Isaev M.I. *Uzbek Biological Journal*. 2010. N5. Pp. 10–12. DOI: 10.1007/s11094-010-0388-7.
21. Agzamova M.A., Duschanova G.M., Rakhmatov Kh.A., Janibekov A.A. *American J. Planta Sciences*, 2020, vol. 11, no. 4, pp. 569–577. DOI: 10.4236/ajps.2020.114042.

Received August 18, 2020

Revised February 9, 2021

Accepted February 18, 2021

For citing: Agzamova M.A., Khalilov R.M., Janibekov A.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 2, pp. 267–274. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021028314.