

УДК 547.917:547.918

ИЗУЧЕНИЕ СТЕРОИДНЫХ САПОГЕНИНОВ КУПЕНЫ ГЛАДКОЙ ИЗ ФЛОРЫ АЗЕРБАЙДЖАНА

© Г.Б. Искендеров, С.А. Пашаева*

Азербайджанский медицинский университет, ул. Бакиханова, 23, Баку,
AZ1022 (Азербайджан), e-mail: sarapasayeva@gmail.com

С целью поиска источников стероидных сапогенинов впервые изучен *Polygonatum glaberrimum* С. Koch. из флоры Азербайджана. Сначала выделили сумму нативных гликозидов, а затем подвергли гидролизу. Нативные гликозиды из корневищ изолировали 70% этанолом 4 раза, все спиртовые извлечения объединяли, упаривали до водного остатка, разбавляли водой и фильтровали. Стероидные гликозиды из водного раствора экстрагировали *n*-бутанолом 4 раза, все органические экстракты объединяли и промывали 10% раствором аммиака 3 раза. Сумму нативных гликозидов, полученную после отгонки *n*-бутанола, подвергли кислотному гидролизу. Получена сумма сапогенинов из двух компонентов, которую разделили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле L. Выделены индивидуальные вещества 1 и 2. По физико-химическим константам, величинам R_f в различных системах, ИК-спектрам и отсутствию депрессии температуры плавления пробы смешения с подлинным образцом вещество 1 идентифицировали с диосгенином. На основании сравнения физико-химических констант, данных ИК-спектра и хроматографического поведения более полярного вещества 2 с литературными данными установлено, что вещество 2 является пенногенином. Выход диосгенина составляет 0,84%, пенногенина – 0,21%.

Ключевые слова: *Polygonatum glaberrimum*, корневища, стероидные сапогенины, диосгенин, пенногенин.

Введение

Стероидные сапогенины ряда спиростана являются надежным источником сырья для синтеза лекарственных препаратов стероидных гормонов, особенно кортикостероидов и прегнанов [1, 2]. Поэтому исследователи многих стран ведут поисковую работу по выявлению перспективных стероидсодержащих родов и видов растений [3–5]. Одним из таких является род купены *Polygonatum* Mill., объединяющий около 50 видов.

Установлено, что стероидные гликозиды корней и корневищ *Polygonatum stenophyllum* Maxim. из флоры Дальнего Востока в качестве сапогенина содержат пенногенин, представляющий собой 17 α – оксидиосгенин [6–9]. Из продуктов гидролиза суммы гликозидов этого растения выделен также диосгенин в очень малых количествах (от 0,07 до 0,15%) [10].

Другой вид *Polygonatum latifolium* Desf. из флоры Молдовы содержит только диосгенин [11, 12]. Исследователям [13] удалось выделить 5 стероидных сапогенинов (тигогенин, смиллагенин, диосгенин, ямогенин, пенногенин) из корневищ купены восточной *Polygonatum polyanthemum* (Bieb.) A. Dietr и 4 (вышеназванные за исключением смиллагенина) из купены гладкой *Polygonatum glaberrimum* С. Koch. В корневищах *P. polyanthemum* из флоры Азербайджана найден только лишь смиллагенин [14].

В различных видах *Polygonatum* установлено наличие других стероидных сапогенинов, таких как гекогенин [15], працеригенин, неопрацеригенин [16], джентрогенин [17, 18], изонартогенин, изочиапагенин, 12 α -гидроксипенногенин [18, 19] и сибиркогенин [20].

Представлен обобщенный обзор стероидных гликозидов видов рода *Polygonatum* и их биологической активности [21].

Искендеров Гаибверди Баширови – заведующий кафедрой общей и токсикологической химии, профессор, доктор фармацевтических наук; e-mail: sarapasayeva@gmail.com

Пашаева Сара Агакишиевна – ассистент кафедры общей и токсикологической химии, e-mail: sarapasayeva@gmail.com

Следует отметить, что 50% гормональных препаратов в мировой практике получают из диосгенина и его соответствующих производных [2]. По сравнению с другими стероидными сапогенинами

* Автор, с которым следует вести переписку.

диосгенин и пенногенин по своим химическим строениям больше подходят для синтеза препаратов стероидов благодаря наличию двойной связи в положении 5,6 их молекулы. Присутствие в молекуле пенногенина 17 α -гидроксильной группы создает дополнительные возможности синтеза 16,17-ди-О-замещенных стероидов, а также холестановых стероидов с гидроксильной боковой цепью, имеющих терапевтическую ценность [21].

В Азербайджане произрастает три вида купены [22], стероидные сапогенины которых не были изучены, за исключением одного вышеназванного [14], хотя галеновые препараты из вида *P. glaberrimum* обладают сердечно-сосудистым действием [23]. Поскольку число и количество стероидных сапогенинов зависит от климатических условий, места произрастания, видов и органов растений, мы изучали стероидные сапогенины наиболее широко распространенного в Азербайджане вида – купены гладкой.

Экспериментальная часть

Для изучения стероидных сапогенинов использовали корневища *P. glaberrimum*, собранные нами в окрестностях села Гечреш Губинского района Азербайджана в середине мая 2013 г., в период цветения. Собранный сырьевой материал сушили в хорошо проветриваемом помещении без доступа солнечных лучей, а затем измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Для определения качественного состава стероидных гликозидов сырья суммы выделенных сапогенинов, установления чистоты, индивидуальности и идентичности веществ использовали хроматографию в тонком слое сорбента на пластинках «Silufol» (Чехия) и «Sorbfil» (Россия), а в качестве подвижной фазы различные системы: I – *n*-бутанол, насыщенный водой; II – *n*-бутанол – 25% аммиак – этанол (10 : 5 : 2); III – хлороформ – петролейный эфир – ацетон (20 : 20 : 5); IV – хлороформ – метанол (15 : 1). Стероидные гликозиды и сапогенины на хроматограммах обнаружили опрыскиванием реактивом Салье с последующим высушиванием в сушильном шкафу при температуре 90 °С в течение 2 мин (желтое окрашивание). Удельное вращение отдельных сапогенинов определяли на поляриметре марки П-161. Температуры плавления определены на приборе Кофлера. ИК-спектры были сняты на спектрометре Spectrum 100 FT-IR Spectrometers (США) в таблетках KBr. Молекулярные массы веществ были определены на масс-спектрометре марки VG-7070.

Выделение стероидных сапогенинов. 0,4 кг воздушно-сухих и измельченных корневищ *P. glaberrimum* экстрагировали 70% этанолом в соотношении 1 : 6, четырежды в течение 24 ч, используя каждый раз новые порции 70% этанола. Все спиртовые извлечения объединяли, упаривали на водяной бане при помощи водоструйного насоса до водного остатка, добавляли 150 мл очищенной воды, через 3 ч остывший раствор фильтровали через бумажный фильтр. Водный фильтрат последовательно 4 раза извлекали *n*-бутанолом по 100 мл. Все *n*-бутанольные извлечения объединяли, 3 раза промывали 10% раствором аммиака по 200 мл. Из органического экстракта *n*-бутанол отгоняли под вакуумом полностью. К сухому остатку прибавляли 200 мл 5% раствора серной кислоты и подвергли гидролизу на водяной бане в колбе с обратным холодильником в течение 10 ч. После остывания смесь отфильтровывали, осадок промывали водой до нейтральной реакции, высушивали в сушильном шкафу при 80 °С, извлекали хлороформом (100 мл) на водяной бане в колбе с обратным холодильником в течение 1 ч. Хлороформный раствор промывали 10% раствором аммиака, хлороформ упаривали, остаток высушивали. Получили сумму сапогенинов, представляющую собой белое кристаллическое вещество, состоящее из двух компонентов. Сумму сапогенинов разделяли в колонке с силикагелем L 40/100 (размер 2×30 см). Колонку промывали системой III, собирая элюаты по 15 мл. Контроль за разделением проводили хроматографией в системах III и IV. Фракции одинакового состава объединяли и растворитель упаривали. При этом получили вещество 1 и 2.

Вещество 1 – состав C₂₇H₄₂O₃, мол. масса 414, т. пл. 201–203 °С, удельное вращение $[\alpha]_D^{20}$ – 120° (с 0,2; хлороформ). ИК-спектр аналогичен спектру диосгенина. При хроматографировании в тонком слое сорбента в системах III и IV вещество 1 имеет одинаковый R_f (0,84 и 0,80) с заведомым образцом диосгенина. Также отсутствует депрессия температуры плавления пробы смешения.

Вещество 2 – состав C₂₇H₄₂O₄, мол. масса 430, т. пл. 231–233 °С, удельное вращение $[\alpha]_D^{20}$ – 105° (с 0,4; хлороформ). В ИК-спектре обнаружены полосы поглощения: 3300–3400 см⁻¹ (ОН-группы), 850, 900, 920, 980 см⁻¹ (спирокетальная боковая цепь), причем интенсивность полосы поглощения при 900 см⁻¹ значительно сильнее, чем при 920 см⁻¹ (900–920 см⁻¹), что указывает на принадлежность сапогенина к изо-, т.е. к 25 R-ряду [2, 24]. Величина R_f в системах III и IV (0,59 и 0,52) показывает, что вещество 2 является более полярным нежели диосгенин.

Обсуждение результатов

Для выделения стероидных сапогенинов сумма нативных гликозидов, изолированная из сырья 70% этанолом с последующим экстрагированием из водного раствора *n*-бутанолом и промыванием экстракта 10% раствором аммиака, подверглась кислотному гидролизу. После соответствующей обработки получена сумма сапогенинов из двух компонентов. Разделение осуществили с помощью колоночной хроматографии. Выделены индивидуальные вещества 1 и 2. Выход вещества 1 составляет 3,36 г (0,84%), а вещества 2 – 0,83 г (0,21%).

По физико-химическим константам, величинам R_f в различных системах, ИК-спектрам и отсутствию депрессии температуры плавления пробы смешения с подлинным образцом вещество **1** идентифицировали с диосгенином.

На основании сравнения физико-химических констант, данных ИК-спектра и хроматографического поведения более полярного вещества **2** с литературными данными [6–9], а также в результате аналитических суждений мы пришли к выводу, что вещество **2** является пенногенином.

По сравнению с методом, основанным на гидролизе сапонинов непосредственно в сырье [13], предложенный нами метод отличается простотой выполнения, полнотой экстрагирования целевых веществ, легкой выполнимостью и высокой степенью чистоты полученных продуктов, что позволяет использовать его в промышленном масштабе. Разработанный нами метод обеспечивает значительно больше выхода диосгенина, чем в [10, 13]. Следовательно, с целью расширения сырьевой базы диосгенина и пенногенина предлагается новый источник сырья – корневища купены гладкой.

Таким образом, купена гладкая из флоры Азербайджана, имеющая достаточное количество запасов сырьевых ресурсов, является доступным источником сырья для получения диосгенина и пенногенина, более подходящих по структуре для синтеза препаратов стероидов.

Выводы

1. Из корневищ купены гладкой выделены индивидуальные стероидные сапогенины диосгенин (0,84%) и пенногенин (0,21%).
2. Купена гладкая из флоры Азербайджана может служить доступным и надежным источником сырья для получения диосгенина и пенногенина.

Список литературы

1. Киченко В.И. Диоскорея как источник сырья для синтеза стероидных гормонов // Медицинская промышленность СССР. 1961. №3. С. 17–20.
2. Камерницкий А.В., Абубакиров Н.К., Горовиц М.Б., Воллернер Ю.Е., Войшвилло Н.Е., Решетова И.Г., Пасешиченко В.А. Химия спиростанолов. М., 1986. 177 с.
3. Мадаева О.С., Серова Н.А., Четверикова Л.С., Шейнкер Ю.Н., Киченко В.И. Обследование некоторых сапониносодержащих растений на содержание стероидных сапонинов // Труды Всесоюзного научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений. М., 1959. Вып. XI. С. 229–236.
4. Пхеидзе Т.А., Кереселидзе Е.В. Поиски произрастающих в Грузии растений, содержащих стероидные сапонины // Биологические активные вещества флоры Грузии. Тбилиси, 1967. Вып. 10. С. 238–270.
5. Муравьева Д.А., Денисова Е.К., Даукша А.Д., Асоева Е.З. Сапониносодержащие растения Северного Кавказа // Изучение и использование лекарственных растительных ресурсов СССР (Труды Всесоюзной научной фармацевтической конференции. Баку, 30 мая – 3 июня, 1961 г. Л., 1964. С. 134–137.
6. Стригина Л.И., Кольчук Е.В. Гликозиды *Polygonatum stenophyllum* // Химия природных соединений. 1972. №3. С. 396–397.
7. Стригина Л.И., Пилипенко Е.П., Кольчук Е.В. Стероидные гликозиды из корней *Polygonatum stenophyllum*. Полигонатозиды C^1 и C^2 // Химия природных соединений. 1977. №1. С. 121–122.
8. Стригина Л.И., Кольчук Е.В., Калиновский А.Н., Исаков В.В. Идентификация пенногенина, полученного при ферментативном расщеплении полигонатозидов C^1 и C^2 из корневищ *Polygonatum stenophyllum* // Химия природных соединений. 1977. №4. С. 580–581.
9. Стригина Л.И., Кольчук Е.В., Исаков В.В. О структуре продуктов частичного гидролиза полигонатозидов C^1 и C^2 из корневищ *Polygonatum stenophyllum* // Химия природных соединений. 1977. №5. С. 711–712.
10. Глебоко Л.И., Улькина Ж.И., Бережеская Л.И., Зинова С.А., Стригина Л.И., Горовой П.Г. Диосгенин и β -ситостерин из подземных органов *Polygonatum stenophyllum* // Химия природных соединений. 1985. №6. С. 842.

11. Кинтя П.К., Велева А.И., Лазурьевский Г.В. Стероидные сапонины XVI. Предварительная характеристика стероидных гликозидов из *Polygonatum latifolium* // Химия природных соединений. 1976. №5. С. 670–671.
12. Кинтя П.К., Стамова А.И., Бакиновский Л.В., Крохмалюк В.В. Стероидные гликозиды. XXI. Структура полигонатозида E¹ и протополлигонатозида E¹ из листьев *Polygonatum latifolium* (Jacq.) Desf. // Химия природных соединений. 1978. №3. С. 350–354.
13. Гвазава Л.Н., Киколадзе В.С. Стероидные сапогенины *Polygonatum polyanthemum* и *P. glaberrimum* // Химия природных соединений. 2012. №5. С. 811–812.
14. Керимов Ю.Б., Насудари А.А. Смилагенин из *Polygonatum polyanthemum* // Химия природных соединений. 1971. №1. С. 124–125.
15. Okanishi T., Akahori A., Yasuda F., Takeuchi Y., Iwao T. Steroid saponins of sixteen plants // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1975. Vol. 23. N3. Pp. 575–579.
16. Sugiyama M., Nakano K., Tomimatsu T., Nohara T. Five steroidal components from the rhizomes of *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum* // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 1984. Vol. 32. N4. Pp. 1365–1372.
17. Li X.C., Yang C.R., Ichikawa M., Matsuura H., Kasai R., Yamasaki K. Steroid saponins from *Polygonatum kingianum* // Phytochemistry. 1992. Vol. 31. N10. P. 3559–3563.
18. Yang C.R., Li X.C. Bioactive triterpenoid and steroid saponins from medicinal plants in Southwest China // Advances in Experimental Medicine and Biology. 1996. Vol. 404. Pp. 225–238.
19. Li X.C., Yang C.R., Matsuura H., Kasai R., Yamasaki K. Steroid glycosides from *Polygonatum prattii* // Phytochemistry. 1993. Vol. 33. N2. Pp. 465–470.
20. Son H.K., Do J.C., Kang S.S. Steroidal saponins from the rhizomes of *Polygonatum sibiricum* // Journal of Natural Products. 1990. Vol. 53. N2. Pp. 333–339.
21. Стригина Л.И., Лихацкая Г.Н., Горовой П.Г. Стероидные гликозиды видов рода *Polygonatum* Mill. и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2003. Т. 39, вып. 3. С. 1–29.
22. Флора Азербайджана. Баку, 1952. Т. 2. С. 198–202.
23. Алиев Р.К., Юзбашинская П.А. Характеристика химического состава травы соломоновой печати, произрастающей в Азербайджане, и влияние ее галеновых препаратов на сердечно-сосудистую систему // Сборник трудов Азербайджанского государственного медицинского института имени Н. Нариманова. Баку, 1958. Вып. V. С. 109–117.
24. Кинтя П.К., Лазурьевский Г.В. Стероидные гликозиды ряда спиростана. Кишинев, 1979. 146 с.

Поступило в редакцию 21 октября 2015 г.

После переработки 29 января 2016 г.

Iskenderov G.B., Pashayeva S.A. * RESEARCH OF STEROIDAL SAPOGENINS OF *POLYGONATUM GLABERRIMUM* C. KOCH. FROM THE FLORA OF AZERBAIJAN

Azerbaijan Medical University, ul. Bakikhanova, 23, Baku, AZ 1022 (Azerbaijan), e-mail: sarapasayeva@gmail.com

For the first time we have studied *Polygonatum glaberrimum* C. Koch. from the flora of Azerbaijan with the aim of finding sources of steroidal sapogenins. First the sum of native glycosides were extracted and then exposed to acidic hydrolysis. Native glycosides were isolated 4 times from the rhizomes by 70% ethanol, all spirituous extracts were combined, evaporated until aqueous residue, diluted with water and filtered. Steroidal glycosides were extracted by *n*-butanol from water solution 4 times, all organic extracts were combined and washed with 10% solution of ammonia 3 times. The sum of native glycosides, obtained after distillation of *n*-butanol, was exposed to acidic hydrolysis. The sum of sapogenins consisting of two components was obtained, which was separated by column chromatography on silica gel L. Individual substances 1 and 2 were isolated. On the base of physico-chemical constants, R_f value in different systems, IR- spectrum and the absence of the melting point depression of the sample mixed with authentic samples substance 1 was identified as diosgenin. On the base of comparison of the physico-chemical constants, data of the IR- spectrum and chromatographic behavior of more polar substance 2 with the literature data, it was established that the substance 2 is pennogenin. The yield of diosgenin is 0,84%, of pennogenin – 0,21%.

Keywords: Polygonatum glaberrimum, rhizomes, steroidal sapogenins, diosgenin, pennogenin.

References

1. Kichenko V.I. *Medicinskaja promyshlen-nost' SSSR*, 1961, no. 3, pp. 17–20. (in Russ.).
2. Kamernickij A.V., Abubakirov N.K., Gorovic M.B., Vollerner Ju.E., Vojshvillo N.E., Reshetova I.G., Pashchnichenko V.A. *Himija spirostanolov*. [Chemistry spirostanolov]. Moscow, 1986, 177 p. (in Russ.).
3. Madaeva O.S., Serova N.A., Chetverikova L.S., Shejner Ju.N., Kichenko V.I. *Trudy Vsesojuznogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lekarstvennyh i aromatischeskih rastenij*. 1959, no. XI, pp. 229–236. (in Russ.).
4. Pheidze T.A., Kereselidze E.V. *Biologicheskie aktivnye veshhestva flory Gruzii*. 1967, no. 10, pp. 238–270. (in Russ.).
5. Murav'eva D.A., Denisova E.K., Dauksha A.D., Asoeva E.Z. *Izuchenie i ispol'zovanie lekarstvennyh rastitel'nyh resursov SSSR (Trudy Vsesojuznoj nauchnoj far-macevticheskoj konferencii. Baku, 30 maja – 3 ijunja, 1961 g.)*. [The study and use of medicinal plant resources of the USSR (Proceedings of the All-Union Scientific Pharmaceutical Conference Baku, May 30, - June 3, 1961)]. Leningrad, 1964, pp. 134–137. (in Russ.).
6. Strigina L.I., Kol'chuk E.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1972, no. 3, pp. 396–397. (in Russ.).
7. Strigina L.I., Pilipenko E.P., Kol'chuk E.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1977, no. 1, pp. 121–122. (in Russ.).
8. Strigina L.I., Kol'chuk E.V., Kalinovskij A.N., Isakov V.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1977, no. 4, pp. 580–581. (in Russ.).
9. Strigina L.I., Kol'chuk E.V., Isakov V.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1977, no. 5, pp. 711–712. (in Russ.).
10. Glebko L.I., Ul'kina Zh.I., Berezhevskaja L.I., Zinova S.A., Strigina L.I., Gorovoj P.G. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1985, no. 6, p. 842. (in Russ.).
11. Kintja P.K., Velava A.I., Lazur'evskij G.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1976, no. 5, pp. 670–671. (in Russ.).
12. Kintja P.K., Stepanova A.I., Bakinovskij L.V., Krohmaljuk V.V. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1978, no. 3, pp. 350–354. (in Russ.).
13. Gvazava L.N., Kikoladze V.S. *Himija prirodnyh soedinenij*, 2012, no. 5, pp. 811–812. (in Russ.).
14. Kerimov Ju.B., Nasudari A.A. *Himija prirodnyh soedinenij*, 1971, no. 1, pp. 124–125. (in Russ.).
15. Okanishi T., Akahori A., Yasuda F., Takeuchi Y., Iwao T. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1975, vol. 23, no. 3, pp. 575–579.
16. Sugiyama M., Nakano K., Tomimatsu T., Nohara T. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1984, vol. 32, no. 4, pp. 1365–1372.
17. Li X.C., Yang C.R., Ichikawa M., Matsuura H., Kasai R., Yamasaki K. *Phytochemistry*, 1992, vol. 31, no. 10, pp. 3559–3563.
18. Yang C.R., Li X.C. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1996, vol. 404, pp. 225–238.
19. Li X.C., Yang C.R., Matsuura H., Kasai R., Yamasaki K. *Phytochemistry*, 1993, vol. 33, no. 2, pp. 465–470.
20. Son H.K., Do J.C., Kang S.S. *Journal of Natural Products*, 1990, vol. 53, no. 2, pp. 333–339.
21. Strigina L.I., Lihackaja G.N., Gorovoj P.G. *Rastitel'nye resursy*, 2003, vol. 39, no. 3, pp. 1–29. (in Russ.).
22. Flora Azerbajdzhana. [Flora of Azerbaijan]. Baku, 1952, vol. 2, pp. 198–202. (in Russ.).
23. Aliev R.K., Juzbashinskaja P.A. *Sbornik trudov Azerbajdzhanskogo gosudarstvennogo medicinskogo instituta imeni N. Narimanova*. Baku, 1958, no. V, pp. 109–117. (in Russ.).
24. Kintja P.K., Lazur'evskij G.V. *Steroidnye glikozidy rjada spirostana*. [Steroid glycosides number spirostana]. Kishinev, 1979, 146 p. (in Russ.).

Received October 21, 2015

Revised January 29, 2016

* Corresponding author.

