

241981

ТАРТУСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

---

На правах рукописи

В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО

ИССЛЕДОВАНИЕ И ПОИСКИ ПУТЕЙ  
ПРИМЕНЕНИЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ ЩЕТИНИСТОЙ  
GLYCYRRHIZA ECHINATA L.

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Diss. Tart.  
387045

Тарту, 1968 г.



На правах рукописи

В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО

ИССЛЕДОВАНИЕ И ПОИСКИ ПУТЕЙ  
ПРИМЕНЕНИЯ КОРНЕЙ СОЛОДКИ ШЕТИНИСТОЙ  
GLYCYRRHIZA ECHINATA L.

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Тарту, 1968 г.

Диссертация выполнена на кафедре технологии лекарственных средств Пятигорского фармацевтического института.

Научный руководитель — заслуженный деятель науки РСФСР, доктор фармацевтических наук, профессор **И. А. Муравьев**.

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук, профессор **Н. Я. Вейдерпасс**, кандидат фармацевтических наук, доцент **Л. А. Кирш**.

Ведущее учреждение: Институт фармацевтической химии Академии наук Грузинской ССР.

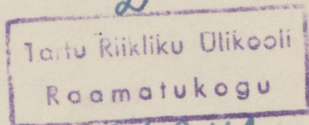
Автореферат разослан «20» XI 1968 г.

Защита диссертации состоится «20» XII 1968 г. на заседании совета медицинского факультета Тартуского государственного университета (г. Тарту, ул. Юликооли, 18, главное здание университета).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ТГУ.

Ученый секретарь совета *И. Маарооз*

(И. МААРООЗ).



426241

Из всех лекарственных растений, произрастающих и заготавливаемых в СССР, с давних пор особо важное значение имела солодка. В настоящее время солодковый корень находит применение в самых различных отраслях народного хозяйства СССР. В фармацевтической промышленности солодку используют для изготовления экстрактов и препаратов противовоспалительного, спазмолитического, противоязвенного, антитоксического и других видов биологического действия. В пищевой промышленности солодку применяют для соусирования табаков, а также в производстве пива, кваса, газированных вод, ликеров, наливок и т. д. В технике экстракты корня солодки используют как пенообразующее средство при зарядке огнетушителей, в горно-обогачительной промышленности и т. д. В животноводстве солодку применяют для сдобривания кормов и повышения удойности молочного скота.

При всей очевидности своего значения для народного хозяйства солодка не может быть отнесена к числу растений, которые достаточно изучены и богатейшие ресурсы которых достаточно рационально используются.

Известно, что на территории СССР произрастает 7 видов солодки, из которых используется однако только 2 вида — *Glycyrrhiza glabra* L. и в меньшей степени *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

Широкое и разнообразное применение указанных видов солодки в народном хозяйстве позволяет предполагать, что в подземных органах других представителей рода *Glycyrrhiza* L. также содержатся вещества, обладающие столь же ценными качествами.

На территории Союза ССР основные запасы дикорастущей солодки сосредоточены в Средней Азии и Казахстане, в южной части Западной Сибири, на юго-востоке европейской части СССР. За последние два десятилетия эти области ока-

зались в значительной степени освоены под разные сельскохозяйственные культуры, что привело к уменьшению природных запасов солодки. Это еще раз говорит о необходимости изучения и освоения всех видов солодок, произрастающих в нашей стране. А так как все солодки содержат соединения по своей структуре родственные глицирретиновой кислоте, то внедрение их в медицинскую практику позволит в значительной степени облегчить решение проблемы получения кортикоидных препаратов.

В 1964 г. в г. Ленинграде (БИН АН СССР им. В. Л. Комарова) состоялось I Межведомственное координационное совещание по исследованию и использованию солодки в народном хозяйстве СССР. Это совещание указало, что объем проведенных исследовательских работ по солодке недостаточен и не соответствует значению солодки и тем природным возможностям, которыми располагает Советский Союз.

Совещание приняло постановление с рекомендациями, направленными на развитие в СССР научных и практических работ по изучению и использованию солодки.

Совещание рекомендовало обратить внимание на необходимость проведения разносторонних исследований по изучению и использованию не только официальных, но и всех видов солодок, произрастающих в СССР.

Одним из таких видов является солодка щетинистая *Glycyrrhiza echinata* L. довольно широко распространенная в Поволжье, на Дону и многих районах Северного Кавказа. Этот вид солодки также имеет мощную корневую систему.

Сведения о солодке щетинистой разноречивы. Длительное время в России считали, что русский солодковый корень, поступающий на экспорт и для промышленной переработки внутри страны, добывают из корней солодки щетинистой. Солодка щетинистая даже включалась в русские фармакопеи XIX века.

В 1937 г. Г. К. Крейер обнаружил в корнях солодки щетинистой глицирризиновую кислоту. Впоследствии И. А. Муравьев и некоторые другие ученые показали, что глицирризиновая кислота в корнях солодки щетинистой отсутствует. Несмотря на это литературные сведения о содержании глицирризиновой кислоты в солодке щетинистой продолжали оставаться противоречивыми до 1966 г.

В 1963 г. из корней солодки щетинистой в лаборатории природных соединений БИН АН СССР им. В. Л. Комарова были выделены биологически активные тритерпеновые кислоты (эхинатовая и мацедониковая), обладающие глюкокортикоидной и противовоспалительной активностью. Все вместе

взятое говорило о своевременности проведения глубокого химического исследования солодки щетинистой, имея конечной своей целью изыскание путей ее использования. В программу наших исследований входило:

1. Проведение возможно полного фитохимического анализа корней растения, в том числе:

а) выяснение наличия в корнях солодки щетинистой глицирризиновой кислоты, а также ее агликона — глицирретиновой кислоты;

б) исследование корней на присутствие других тритерпеновых сапонинов и свободных тритерпеноидов, среди которых могли быть биологически активные вещества;

в) выявление в корнях солодки щетинистой флавонов, комплекс которых мог быть аналогичным комплексу флавонов солодки голой и уральской, которые оказались активными спазмалитиками.

2. Проведение технологических исследований с целью разработки перспективных для медицины препаратов.

3. Проведение некоторых биологических исследований в первом виде подтверждающие ценность солодки щетинистой.

Таким образом, можно было предположить, что наши исследования расширят видовой состав солодок, используемых в народном хозяйстве, и тем самым значительно увеличат сырьевую базу.

## І ЧАСТЬ

### Общий обзор литературы

Эта часть диссертации состоит из 4 глав, в которых кратко изложены основные литературные сведения о солодке щетинистой.

В первой главе дано систематическое положение, ботаническое описание солодки щетинистой с указанием условий ее местообитания, районов распространения и сообществ растительности.

Во второй главе приведены противоречивые сведения о солодке щетинистой как источнике русского солодкового корня. Речь идет о том, что с середины XVIII в. и до середины нашего столетия существовала путаница в определении ценности корней солодки щетинистой.

Третья глава посвящена химическому изучению корней солодки щетинистой. Кратко изложены основные этапы изучения корней солодки щетинистой. Особое внимание уделено тритерпеновым соединениям: глицирризиновой, глициррети-

новой, эхинатовой и мацедониковой кислотам. Приводятся некоторые сведения о химии тритерпеновых сапонинов.

Четвертая глава содержит литературные сведения о применении солодки щетинистой в медицине и народном хозяйстве. Приведенные литературные сведения показывают, что изучаемый вид солодки имеет интересные свойства и возможен для использования в народном хозяйстве.

## II ЧАСТЬ

### Собственные исследования

Эта часть диссертации состоит из 5 глав, в которых описываются ресурсные, химические, технологические исследования корней солодки щетинистой, а также некоторые биологические испытания сапонинов из корней солодки щетинистой.

#### 1. Ресурсные исследования.

С целью изучения местообитаний и распространения солодки щетинистой, а также для предварительного установления сырьевых запасов корней растения в Нижнем Поволжье, в указанный район нами было осуществлено 9 выездов. В результате проведенных исследований установлено, что в Нижнем Поволжье солодка щетинистая встречается повсеместно. Ориентировочное определение продуктивности солодковых зарослей в обследованном районе показало, что запасы сухих корней солодки щетинистой на 4 зарослях общей площадью в 64 га, взятых для изучения, составляют 150 т.

#### 2. Фитохимическое исследование.

Исследование корней солодки щетинистой проводилось нами с целью выявления всех групп биологически активных соединений, типичных для промышленных видов солодки. Материалом для анализов послужили корни солодки щетинистой, собранные в фазу цветения летом 1965 г. на заросли у с. Громки (Волгоградская область).

Выкопанные подземные органы солодки щетинистой очищали от песка, сушили в тени, измельчали и анализировали. Для подтверждения достоверности результаты анализов были обработаны статистически.

Товароведческие исследования подземных органов солодки щетинистой показали, что их влажность находится в пределах от 8,09 до 10,29 проц. Общая зольность подземных органов составляет 7,92—9,58 проц. Количество экстрактивных веществ в корнях солодки щетинистой, определенных по методу И. А. Муравьева, может достигать 33 проц.

**Сапонины.** Поскольку официальные виды солодки являются типичными сапониноносными растениями, свои химические исследования мы начали с выявления этой группы биологически активных веществ. При этом учитывали указание Д. А. Муравьевой, Е. К. Денисовой и др., что солодка щетинистая как сапониноносное растение перспективна для дальнейших углубленных исследований.

Присутствие сапонинов в корнях солодки щетинистой мы установили по высокому пенному числу, с помощью качественных реакций, а также используя методы хроматографии и электрофореза на бумаге.

Количественное определение сапонинов проводили весовым способом после извлечения их из корней растения 1-проц. раствором аммиака. Общее содержание неочищенных сапонинов в подземных органах солодки щетинистой составляет 15 проц.

С целью очистки 10 г полученных сапонинов подвергали экстрагированию кипящим метанолом (порциями по 250 мл) в колбе с обратным холодильником до тех пор, пока раствор метанола в колбе не становился бесцветным. Для удаления примесей веществ восстанавливающего и фенольного характера на первой стадии очистки мы использовали метод пересаживания суммы сапонинов диэтиловым эфиром из *n*-бутанола, насыщенного водой. После этого осадок сушили, сапонины снова растворяли в воде и пересаживали ацетоном. Высушенную при температуре не выше 60° сумму сапонинов растворяли в водном *n*-бутиловом спирте и переносили на колонку с окисью алюминия II степени активности (по Брокману). Количество окиси алюминия 300 г, высота слоя 15 см, диаметр колонки 5 см. Элюирование суммы сапонинов из колонки производили раствором *n*-бутилового спирта. Контроль на сапонины вели с помощью раствора треххлористой сурьмы в хлороформе или 0,05 проц. раствора метилвиолета в 1 *n*. уксусной кислоте. Возможное присутствие сахаров в элюате проверяли пробой с анилинфталатным реактивом на фильтровальной бумаге, а фенольных соединений — с раствором треххлористого железа. Фракции, содержащие сапонины, собирали, объединяли, а растворитель отгоняли под вакуумом. К остатку добавляли диэтиловый эфир, осадок отфильтровывали и сушили при температуре 60°. Выход суммы очищенных сапонинов 8 проц. от взятой исходной суммы неочищенных сапонинов.

Очищенная сумма сапонинов представляет собой аморфный порошок белого цвета с кремоватым оттенком. После перевода в аммонийные соли сапонины легко растворяются в

воде, хорошо растворяются в спирте пока концентрация последнего не будет превышать 70 проц. Сапонины хорошо растворяются в метиловом спирте и пиридине. Плохо растворяются в абсолютном этаноле, не растворяются в ацетоне, хлороформе, эфире и дихлорэтане.

Для выяснения к какой из групп (тритерпенов или стероидов) принадлежат выделенные нами сапонины, а также для определения их характера, мы поступали следующим образом: сначала проводили хроматографирование суммы сапонинов в системах:

- 1) изобутиловый спирт-уксусная кислота-вода (50:15:21);
- 2) изобутиловый спирт-этиловый спирт-вода (15:3:7);
- 3) н.-бутиловый спирт-этиловый спирт-вода (20:15:10) и
- 4) хлороформ-метанол (90:10).

Хроматографирование проводили восходящим способом на бумаге Ленинградская «М» 15—18 часов. Проявляли хроматограммы раствором треххлористой сурьмы в хлороформе, 25-проц. спиртовым раствором кремневольфрамовой кислоты, 0,05-проц. раствором метилвиолета в 1 н. уксусной кислоте и 1-проц. спиртовым раствором бромтимолового синего. Кроме того, мы использовали электрофоретический анализ сапонинов на аппарате марки ЭФА-1 при напряжении 350 вольт и силе тока 10—15 мА. В качестве растворителя применяли буферную смесь (рН 9,0), состоящую из 7,73 г борной кислоты, 2,13 г едкого натра и 1780 мл воды. Проявителями служили те же растворы, что и при хроматографическом анализе.

Используя хроматографический и электрофоретический методы анализа, мы установили, что сумма исследуемых сапонинов из корней солодки щетинистой состоит из двух близких по характеру веществ, для которых наиболее подходящими (при хроматографии) являются системы 1 и 3, обычно применяемые при анализе тритерпеновых сапонинов, а при электрофорезе боратный буфер с рН 9,0. Система 4, которая обычно используется при хроматографии стероидных сапонинов, совершенно не подходит. Взаимодействие сапонинов из корней солодки щетинистой с 1-проц. спиртовым раствором бромтимолового синего (реактив на органические кислоты) с появлением желтой окраски говорит о том, что сапонины имеют кислый характер.

Для подтверждения тритерпеновой природы сапонинов мы использовали метод А. Фонтан-Канделла, который основан на сравнительной оценке пенообразования навесок сапонинов в 2-х пробирках при различных рН среды. Оказалось, что устойчивость пены в обеих пробирках одинакова. По А. Фонтан-Канделла это явление означает, что полученная

сумма сапонинов относится к тритерпеновому ряду природных соединений.

**О глицирризиновой кислоте в корнях солодки щетинистой.** Сумму сапонинов из корней солодки щетинистой, полученную с помощью 1-проц. раствора аммиака, а также извлечения из корней растения, полученные при помощи 40-проц., 70-проц., 96-проц. этилового спирта, метанола, насыщенного водой бутанола и воды, исследовали на присутствие глицирризиновой кислоты методом хроматографии и электрофореза на бумаге. Для хроматографии сапониносодержащих фракций использовали систему 3, а также систему, специфичную для глицирризиновой кислоты: 5) *n*-бутанол-этанол-аммиак (6:1:3), предложенную И. А. Муравьевым, В. Д. Пономаревым и Н. И. Бурка. Хроматограммы и электрофореграммы проявляли 0,05-проц. раствором метилвиолета в 1 *n*. уксусной кислоте, а также 10-проц. раствором треххлористой сурьмы в хлороформе. Результаты опытов показали, что глицирризиновая кислота в корнях солодки щетинистой отсутствует.

Дальнейшие наши исследования ставили своей целью обнаружение глицирретеновой кислоты-агликона глицирризиновой кислоты. Параллельно мы вели поиски и других свободных тритерпеноидов, которыми могли быть эхинатова и мацедониновая кислоты, найденные ранее в гидролизате суммарного экстракта из корней солодки щетинистой Н. П. Кирьяловым и Т. Н. Наугольной. Нами испытывались извлечения из корней растения, полученные с помощью этилового и метилового спирта. Метод исследования — тонкослойная хроматография на силикагеле в системах растворителей: 6) хлороформ-уксусная кислота (85:15), 7) этилацетат — этиловый спирт-ацетон — 0,05 проц. аммиак (60:15:13:5). В итоге нами показано, что глицирретеновая кислота, а также другие тритерпеноиды (имеются в виду эхинатова и мацедониновая кислота) в свободном виде в корнях солодки щетинистой отсутствуют.

**Флавоноиды.** Качественные исследования флавоноидов в корнях солодки щетинистой проводили с использованием ряда качественных реакций, хроматографически в системе 8) 15-проц. уксусная кислота и электрофоретически в боратном буфере рН 9,0. При этом обнаружено 12 веществ, два из которых хроматографически, электрофоретически и спектрофотометрически в УФ-свете с применением контрольных образцов идентифицированы как ликвиритин и ликвиритигенин. Количественно флавоноиды определяли весовым способом из концентрированных этилацетатных экстрактов. Найдено, что

В корнях солодки щетинистой содержится 2,87 проц. флавоноидов.

**Углеводы.** Выделение сахаров из корней солодки щетинистой мы проводили методом И. А. Муравьева. Качественный состав сахаров до гидролиза и после гидролиза определяли хроматографически в системе: 9) н.-бутиловый спирт-ацетон-вода (2:7:1) с применением контрольных образцов моно- и дисахаридов. Проявителем служил 3-проц. раствор п-анизида в н.-бутаноле.

Установлено, что до гидролиза в корнях солодки щетинистой содержится сахароза и глюкоза. Свободные уроновые кислоты методом хроматографии на бумаге в системе 10) н.-бутиловый спирт-пиридин-вода (6:4:3) не найдены. После гидролиза спиртового извлечения из корней солодки щетинистой найдены фруктоза, галактоза, глюкоза и глюкуроновая кислота.

Количественное определение сахаров в спиртовой вытяжке из корней солодки щетинистой до и после гидролиза определяли по Бертрану. Установили, что в корнях солодки щетинистой содержится 6,54 проц. сахаров, из них 2,85 проц. моносахаридов и 3,66 проц. дисахаридов.

Содержание крахмала в корнях солодки щетинистой устанавливали методом Н. Н. Иванова. С помощью фермента диастаз и слабой серной кислоты перевели крахмал в глюкозу, которую затем определяли по Бертрану. После вычета моносахаридов и дисахаридов из общего количества найденной глюкозы получали 28,5 проц. крахмала.

Количество клетчатки согласно методу Ваксмана и Стевенса в корнях солодки щетинистой достигает 38,68 проц.

Сумму пектиновых веществ в корнях солодки щетинистой определяли методом пектата кальция. В сухом сырье общее содержание их составляет 5,71 проц.

**Смолы.** По спиртовому методу Е. В. Шикторовой количество смолистых веществ в корнях солодки щетинистой составляет 2,29 проц.

**Органические кислоты.** В корнях солодки щетинистой органические кислоты мы определяли качественно и количественно. Методом бумажной хроматографии в системах: 11) фенол-муравьиная кислота-вода (30:0,4:10) и 12) н.-бутанол-муравьиная кислота-вода (18:2:9) (проявитель 0,1 проц. раствор бромтимолового синего в спирте) с использованием контрольных образцов обнаружено три вещества, одно из которых идентифицировано как щавелевая кислота. Методом Ф. В. Церевитинова в модификации Р. К. Алиева определено количество органических кислот в корнях солодки щетини-

стой. Общее содержание органических кислот в корнях растения достигает 1,29 проц. титруемых 0,89 проц. и связанных 0,49 проц.

**Белковые вещества и аминокислоты.** Методом Ермакова А. И. и др. в корнях солодки щетинистой определяли общее содержание белковых веществ, которое составляет 8,74 проц.

Затем предварительно очищенную методом И. М. Хайса водную вытяжку из корней солодки щетинистой хроматографировали на бумаге в системе 13) н.-бутиловый спирт-уксусная кислота-вода (9:1:1) с контрольными образцами аминокислот. Хроматограммы проявляли спиртовым раствором нингидрина. По результатам анализа можно сделать вывод, что в корнях солодки щетинистой присутствует аспарагин, глутамин, пролин, лейцин и 5 других неидентифицированных аминокислот.

**Азотистые основания.** Учитывая литературные данные о содержании в корнях солодки голой азотистых оснований, мы провели исследование корней солодки щетинистой в этом направлении. Методом бумажной хроматографии в системе 14) н.-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) (проявитель реактив Драгендорфа) обнаружено вещество с  $R_f$  0,80. Хлоргидрат бетаина и холинхлорид в корнях солодки щетинистой отсутствуют ( $R_f$  0,30 и 0,34 соответственно).

Количество азотистых оснований, определенное дихлорэтановым способом, составило 0,18 проц.

3. Химическое изучение сапонинов солодки щетинистой. Разделение и выделение индивидуальных сапонинов мы осуществили методом распределительной хроматографии на колонке, заполненной «водной» кремневой кислотой. В качестве растворителя использовали систему 3) изобутанол-уксусная кислота-вода (15:3:7) (по объему, верхний слой). В результате нами были получены два индивидуальных соединения — сапонин А и сапонин Б.

Выделенные вещества имеют вид белых аморфных порошков с кремовым оттенком. Они хорошо растворимы в метаноле, насыщенном водой бутаноле и изобутаноле, а также в этиловом спирте с содержанием его до 70 проц. В воде растворимость сапонинов ограничена и улучшается при нагревании и при добавлении щелочей. Температура разложения сапонины А — 232—238°, а сапонина Б — 190—195°. При исследовании сапонинов с помощью ИК-спектрофотометрии на спектрофотометре UR—10 нами отмечены следующие полосы поглощения: 1700  $\text{см}^{-1}$  (карбоксильная и карбонильная группа), 3180 и 3680  $\text{см}^{-1}$  (гидроксильные группы), 1470 и 850  $\text{см}^{-1}$  (двойные связи), 1176  $\text{см}^{-1}$  (изопропильная группа). У сапо-

нина Б обнаружены полосы поглощения при:  $1750\text{ см}^{-1}$  (карбоксильная и карбонильная группа),  $3000\text{--}3670\text{ см}^{-1}$  (гидроксильные группы),  $1470$  и  $850\text{ см}^{-1}$  (двойные связи)  $1176\text{ см}^{-1}$  (изопропильная группа).

Изучение УФ-спектров сапонинов показало, что у сапони-на А имеется 3 максимума, при  $\lambda$  242, 251 и 258 мк. У сапо-нина Б найден 1 максимум, при  $\lambda$  281 мкк.

Агликоны выделенных сапонинов мы получили гидроли-зом их в 5—7-проц. соляной кислоте по методу Н. П. Кирья-лова и Т. Н. Наугольной. Агликон сапонины А нерастворим в метиловом спирте, эфире, бензоле; плохо растворяется в ле-дяной уксусной кислоте и пиридине. При нагревании раство-рим в диоксане и этиловом спирте. Хорошо растворяется в спирте при добавлении аммиака с одновременным нагрева-нием до  $40^\circ$ . Температура плавления агликона  $338\text{--}340^\circ$  (с разложением). Проба смешения агликона сапонины А с заве-домым образцом мацедониковой кислоты понижения темпе-ратуры плавления не дала.\*).

Агликон сапонины Б плохо растворим в эфире, метаноле, хлороформе; хорошо растворяется в пиридине, диоксане и спирте. Температура плавления  $296\text{--}298^\circ$  (с разложением). Проба смешения агликона сапонины Б с заведомым образ-цом эхинатовой кислоты понижения температуры плавления не дала.

С выделенными агликонами сапонинов А и Б мы провели ряд качественных реакций. В качестве контроля использова-ли эхинатовую и мацедониковую кислоту. Полученные ре-зультаты говорят об идентичности агликона сапонины А с ма-цедониковой кислотой, а агликона сапонины Б с эхинатовой кислотой.

Методом хроматографии в тонком слое на силикагеле марки МСМ мы дополнительно проводили идентификацию агликонов сапонинов А и Б с контрольными образцами эхи-натовой и мацедониковой кислот. Для этого использовали системы растворителей: 15) хлороформ-уксусная кислота-толуол (10:5:10), 16) н.-бутиловый спирт-диоксан-вода (1:1:1), 17) метиловый спирт-хлороформ-толуол (10:5:10) и 18) пири-дин-этилацетат-вода (11:40:6). Проявляли хроматограммы концентрированной серной кислотой и раствором треххлори-стой сурьмы в хлороформе. Результаты хроматографирова-ния выделенных агликонов сапонинов показали их идентич-

---

\* ) Образцы эхинатовой и мацедониковой кислот были любезно предоставлены нам Н. П. Кирьяловым (БИН АН СССР, г. Ленин-град).

ность с эхинатовой и мацедониновой кислотой. Так, в системах 15, 16, 17 и 18 агликон сапонины А и мацедониновая кислота имеют  $R_f$  соответственно: 0,86; 0,59; 0,88 и 1,0. В этих же системах агликон сапонины Б и эхинатовая кислота имеют  $R_f$  соответственно: 0,95; 0,77; 0,95 и 0,80.

Кроме того, агликоны сапонинов А и Б мы исследовали методом ИК-спектрофотометрии на спектрофотометре UR—10. Для ИК-спектра агликона сапонины А характерны полосы поглощения при: 2890—3066  $\text{см}^{-1}$  (гидроксильные группы), 1735  $\text{см}^{-1}$  (карбоксильная и карбонильная группа), 1465, 894, 830 и 808  $\text{см}^{-1}$  (двойные связи), 1175  $\text{см}^{-1}$  (изопропильная группа). ИК-спектр агликона сапонины Б имеет следующие полосы поглощения: 2890—3300  $\text{см}^{-1}$  (гидроксильные группы), 1700  $\text{см}^{-1}$  (карбоксильная и карбонильная группа) 1480, 830 и 808  $\text{см}^{-1}$  (двойные связи) 1176  $\text{см}^{-1}$  (изопропильная группа). Параллельно нами были получены ИК-спектры образцов мацедониновой и эхинатовой кислот, причем ИК-спектр первой совпал с ИК-спектром агликона сапонины А, а ИК-спектр эхинатовой кислоты совпал с таковым для агликона сапонины Б.

В УФ-спектре агликона сапонины А и мацедониновой кислоты имеются идентичные максимумы при  $\lambda$  242, 251 и 258 ( $\lg \epsilon$  4,1—4,3). В УФ-спектре агликона сапонины Б и эхинатовой кислоты найден максимум при 281 мкм ( $\lg \epsilon$  2,5).

Идентификацию углеводной части сапонинов из корней солодки щетинистой проводили методом хроматографии и электрофореза на бумаге. Для этого гидролизаты, оставшиеся после отделения агликонов сапонинов хроматографировали восходящим способом на бумаге марки «М» в системе 10 и нисходящим способом в системах 9,14 и 19) пропиловый спирт-уксусная кислота-вода (2:7:1). Проявителем служил анилинфталатный реактив. Используя контрольные образцы моносахаридов в гидролизатах обоих сапонинов, обнаружили рамнозу ( $R_f$  в системах 9, 10, 14 и 19 равно соответственно 0,42; 0,55; 0,43 и 0,46) и глюкуроновую кислоту ( $R_f$  в системах 9,14 и 19 равно соответственно 0,08; 0,10 и 0,19). Известно, что в растворах глюкуроновая кислота существует в 2-х формах — в форме кислоты и ее лактона. Поэтому в системе 10 глюкуроновую кислоту мы обнаружили по  $R_f$  ее лактона, равному 0,51. Сама кислота в этой системе образует размытую полосу. Значения  $R_f$  глюкуронолактона в системах 9,14 и 19 равны соответственно 0,35; 0,37 и 0,43. Наличие рамнозы и глюкуроновой кислоты в гидролизатах сапонинов А и Б подтвердили методом электрофореза на аппарате ЭФА-1 в боратном буфере рН 9,0. При напряжении в 350 вольт, силе

тока 10—15 мА за 2 часа пятна рамнозы в гидролизатах сапонинов А и Б вместе с контрольным пятном рамнозы проходили расстояние от старта в 1,5 см, а глюкуроновая кислота и ее лактон вместе с контрольными пятнами этих веществ 5 и 7 см соответственно каждое.

В целях дополнительной идентификации рамноза была получена в кристаллическом состоянии с температурой плавления 95—96°. Глюкуроновая кислота была выделена в виде ее ангидрида с температурой плавления 167—169°.

Соотношение моносахаридных единиц в цепи молекул сапонинов мы определяли по методу Г. Н. Зайцевой и Т. П. Афанасьевой хроматографически в системе 20) бензол — н.-бутанол-пиридин-вода (1:5:3:3). После проявления пятна моносахаридов вырезали, элюировали ледяной уксусной кислотой и спектрофотометрировали на спектрофотометре СФ-4А относительно ледяной уксусной кислоты. Соотношение рамнозы и глюкуроновой кислоты в молекулах исследуемых сапонинов соответствует 1:1.

Для получения первоначальных сведений о строении углеводной цепи сапонинов А и Б мы провели их ступенчатый гидролиз в соляной кислоте различной концентрации (от 0,25 до 2,0 н). Продукты гидролиза хроматографировали в системе 9, а также подвергали электрофоретическому анализу на бумаге в боратном буфере рН 9,0. Во всех случаях первой в гидролизате появлялась глюкуроновая кислота, а следовательно она находится в конце углеводной цепи сапонинов. Рамноза в гидролизате появлялась через 1—2 часа, из чего можно заключить, что она непосредственно связана с агликоном в обоих сапонах.

Учитывая данные изучения сапонинов, можно предположить, что сапонин А представляет собой глюкуронидо-рамнозид-мацедониновой кислоты, а сапонин Б — глюкуронидо-рамнозид-эхинатовой кислоты.

В заключение по разработанной нами методике был определен молекулярный вес сапонинов. Определение проводили спектрофотометрически в концентрированной серной кислоте при длине волны 310 мкм. Молекулярный вес сапонины А оказался в пределах 782,5—828,7, а сапонины Б — 807,5—837,8.

#### 4. Технологические исследования.

##### Препараты из корней солодки щетинистой

При получении суммарных препаратов из корней солодки щетинистой в качестве экстрагентов мы использовали подщелоченную воду, а также 50,70 и 96° этиловый спирт.

При использовании 1-проц. водного раствора аммиака мы получили выход экстрактивных веществ близкий к 27 проц. Водная вытяжка, полученная с помощью 1-проц. раствора гидрокарбоната натрия, содержала 30 проц. экстрактивных веществ. В вытяжке, полученной с помощью 1-проц. раствора аммиака, содержание сапонинов оказалось в 2 раза большим, чем в вытяжке, приготовленной с помощью 1-проц. раствора гидрокарбоната натрия. Поскольку сапонины являются основной группой биологически активных веществ в качестве экстрагента для получения водных вытяжек мы избрали 1-проц. раствор аммиака. Качественными реакциями в водных извлечениях, кроме сапонинов, были обнаружены флавоноиды, белки, камеди, слизистые вещества, сахара и т. д.

При получении густого и сухого экстрактов из корней солодки щетинистой мы приняли такую же технологическую схему, как и для получения соответствующих экстрактов из промышленного корня. Характеристика экстрактов из корней солодки щетинистой дана по их физическим свойствам, по фармакопейным показателям, по содержанию основных групп биологически активных соединений (сапонинов, флавоноидов, сахаров).

Для получения спиртовых экстрактов мы использовали 50, 70 и 96° спирт, т. к. содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этих концентраций, достигает 33 проц. (для 50° спирта) и 20 проц. (для 70° спирта). 96° спирт мы брали с ориентацией на более полное извлечение флавоноидов.

Спиртовые экстракты из корней солодки щетинистой на 50, 70 и 96° спирте мы получали методом перколяции с последующим их сгущением и высушиванием в вакууме. Экстракты были проанализированы по фармакопейным показателям и по основным группам биологически активных веществ. Результаты анализов представлены в таблице 1.

Из корней солодки щетинистой нами был получен новогаленовый препарат — максимально очищенная сумма сапонинов. При выделении и очистке суммы сапонинов использовалась разработанная нами технологическая схема, включающая такие «мягкие» операции как экстракция полярными и неполярными растворителями, разделение веществ с помощью несмешивающихся жидкостей, переосаждение сапонинов эфиром и ацетоном из соответствующих спиртовых и водных растворов, очистка и выделение сапонинов с помощью распределительной хроматографии. Выход очищенной суммы сапонинов с использованием этой схемы составил 8 проц. от количества взятого исходного сырья.

Характеристика препаратов из корней солодки щетинистой  
(среднее из 3 определений)

Типы препаратов	С о л д е р ж а н и е %							
	влага	сапонины	флаво- нонды	глюкоза	сахароза	сумма сахаров	тяжелые металлы	железо
Густой экстракт	22,10	24,35	3,58	5,43	8,60	14,09	0,002	0,003
Сухой экстракт	4,49	28,30	4,01	5,51	8,53	14,09	0,002	0,003
Сухой экстракт на 50° спирте	3,28	21,36	2,49	7,01	12,07	19,08	0,003	0,002
Сухой экстракт на 70° спирте	5,06	44,53	5,29	6,31	9,65	15,96	0,003	0,003
Сухой экстракт на 96° спирте	6,87	—	24,78	7,22	8,25	15,47	0,003	0,003

**Поверхностно-активные свойства препаратов из корней солодки щетинистой.** Пенообразующие свойства полученного густого экстракта из корней солодки щетинистой сравнивали с пенообразованием густого экстракта из корней солодки голой. Для этого мы использовали метод Кофлера. Этим же методом определялся и спад пены в обоих экстрактах. Результаты исследований показали, что густой экстракт из корней солодки щетинистой и солодки голой, одинаковым способом полученные и обработанные, а также взятые в равных количествах, дают почти одинаковый столб пены.

Нами также было проведено сравнительное определение кратности выхода пены образцов густых экстрактов из корней солодки щетинистой и образцов таких же экстрактов солодки голой. Испытания проводились по методу, предложенному для испытаний и зарядки ручных химических огнетушителей. В итоге нами выяснено, что кратность пены и ее стойкость в густом экстракте, из корней солодки щетинистой удовлетворяют требованиям, предъявленным к пенообразователям, и равноценны таковым из густого экстракта солодки голой. Отсюда следует, что экстракт из солодки щетинистой может употребляться наравне с экстрактом из корней солодки голой, а также заменять его.

Исследование поверхностно-активных свойств новогаленового препарата по методу Бауэра показало, что пенное число суммы сапонинов из корней солодки щетинистой достигает 18.000, лишь немного уступая по пенообразовательной способности сапонины солодки голой — глицирризиновой кислоте, пенное число которой по литературным данным равно 20.000. Из этого сравнения следует, что поверхностно активные свойства суммы сапонинов из корней солодки щетинистой резко выражены. Эти свойства, в свою очередь, могут быть областью наших дальнейших исследований с целью практического применения полученной суммы сапонинов.

5. Биологические исследования\*). Методом А. Д. Туровой и А. С. Гладких нами была произведена проверка новогаленового препарата (суммы сапонинов) из корней солодки щетинистой на токсичность. В результате выяснилось, что сумма сапонинов не оказывает токсического действия на белых крыс в интервале доз от 100 до 1000 мг/кг веса животных.

После введения суммы сапонинов белым крысам методом

---

\*) Биологические исследования сапонинов солодки щетинистой проводились на кафедре органической и биологической химии ПФИ (зав. каф. проф. А. Л. Шинкаренко) совместно с ассистентом кафедры Г. И. Геращенко.

Пфлюгера определяли содержание гликогена в печени животных. Оказалось, что по сравнению с контролем, сапонины солодки щетинистой способствуют накоплению гликогена в печени белых крыс. Одновременное уменьшение гликогена в мышцах животных подтверждает глюкокортикоидное действие сапонинов.

Исследование противовоспалительной активности суммы сапонинов методом Cotton pellet позволило сделать вывод, что сапонины солодки щетинистой влияют на обе фазы воспалительного процесса, что согласуется с уменьшением аскорбиновой кислоты в надпочечниках белых крыс.

Нами изучалось действие сапонинов на содержание нуклеиновых кислот в некоторых органах морских свинок (методом Симачова в крови и методом Спирина в сердце, печени, поджелудочной железе, почках, надпочечниках и мышцах брюшной стенки). При этом было выяснено, что сумма сапонинов солодки щетинистой увеличивает содержание суммы нуклеиновых кислот, дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислоты в сердце и в мышцах брюшной стенки морских свинок.

Эти новые свойства сапонинов ранее никем не изучались.

## В Ы В О Д Ы

1. В районе Волго-Ахтубы солодка щетинистая распространена повсеместно и образует значительные заросли. Запасы корней только на обследованных участках площадью 64 га составляют 150 т воздушно сухого сырья.

2. В корнях солодки щетинистой имеются все группы соединений, характерные для промышленных видов солодки: сапонины (более 15 проц.), флавоноиды (2,85 проц.), углеводы (моносахариды (2,85 проц.), дисахариды (3,66 проц.), крахмал (28,5 проц.), клетчатка (38,6 проц.), пектиновые вещества (5,71 проц.), органические кислоты (1,29 проц.), белковые вещества (8,74 проц.), азотистые основания (0,18 проц.), жиры (1,90 проц.). Сумма экстрактивных веществ в корнях солодки щетинистой достигает 33 проц. Наиболее значительными по своему количественному содержанию, а также по биологической ценности являются сапонины и флавоноиды. Максимальное количество сапонинов и флавоноидов в корнях растения содержится в период цветения.

3. Установлено, что сапонины представлены двумя соединениями тритерпеновой природы. Показано, что в числе этих сапонинов глицирризиновой кислоты не имеется. Не найден

и агликон ее глицирретиновая кислота, а также и другие свободные тритерпеноиды.

4. С помощью распределительной хроматографии на колонке с кремневой кислотой в системе изобутанол-уксусная кислота-вода (15:3:7) из корней солодки щетинистой впервые выделены индивидуальные гликозиды, которые до выяснения их строения, мы назвали сапонин А и сапонин Б. После гидролиза с помощью ИК и УФ спектрофотометрии, хроматографии в тонком слое и других физико-химических методов агликон сапонины А идентифицирован как мацедониковая кислота, а агликон сапонины Б — как эхинатовая кислота.

5. Доказано, что в состав углеводных составляющих молекул обоих сапонинов входят рамноза и глюкуроновая кислота. У выделенных индивидуальных сапонинов определено молярное соотношение моносахаридов и выяснена последовательность присоединения моносахаридов к агликону. На этом основании можно предположить, что сапонин А представляет собой глюкуронидо-рамнозид-мацедониковой кислоты, а сапонин Б — глюкуронидо-рамнозид-эхинатовой кислоты. Рассчитан молекулярный вес сапонинов.

6. Разработаны препараты галенового типа, а также предложена технологическая схема получения новогаленового препарата суммы сапонинов из корней растения. Водные экстракты оказались эффективными пенообразователями, почти не уступающими экстрактам из корня солодки голой. Сумма сапонинов имеет высокое пенное число и может использоваться в качестве поверхностно-активного вещества.

7. Установлено, что сумма сапонинов практически не токсична и обладает противовоспалительной и глюкокортикоидной активностью. Проведено изучение влияния препарата сапонинов солодки щетинистой на содержание нуклеиновых кислот у морских свинок. Полученные данные свидетельствуют о достоверном увеличении суммы нуклеиновых кислот у животных, которым вводили сапонины в сердце, мышцах брюшной стенки, в крови. При этом концентрация ДНК и РНК + кислоторастворимые фосфорные соединения также увеличились в сердце и мышцах брюшной стенки.

Биологическое действие сапонинов из корней солодки щетинистой открывает пути для возможного использования сапонинов солодки щетинистой в медицине.

Диссертация изложена на 190 страницах машинописи и состоит из предисловия, литературного обзора (28 стр.), экспериментальной части (143 стр.), выводов, указателя литературы. В диссертации приведено 48 таблиц и 23 рисунка. Указатель литературы включает 209 работ, из которых 117 отечественных и 66 иностранных авторов.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. Хроматографический и электрофоретический методы идентификации углеводных остатков тритерпеновых сапонинов солодки щетинистой. В кн.: Симпозиум Всесоюзного научного фармацевтического общ. «Синтез и анализ лекарственных веществ». Львов, 1966, стр. 209—210.

2. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. Изучение моносахаридного состава и размера углеводных остатков тритерпеновых сапонинов солодки щетинистой. В кн.: Вопросы курортологии, фармации и фармакологии. Пятигорск, 1967, стр. 359—360.

3. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО и И. А. МУРАВЬЕВ. Тритерпеновые сапонины корней солодки щетинистой. Растительные ресурсы, 1968, т. IV, вып. I, стр. 62—67.

4. И. А. МУРАВЬЕВ и В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. О правдоподобности присутствия глицирризиновой кислоты в солодке щетинистой. Материалы совещания по вопросам изучения и освоения растительных ресурсов СССР. Новосибирск, 1958 г. стр. 104—105.

5. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. О динамике накопления тритерпеновых сапонинов в солодке щетинистой. Материалы совещания по вопросам изучения и освоения растительных ресурсов СССР. Новосибирск, 1968, стр. 105.

6. И. А. МУРАВЬЕВ, В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. Строение тритерпеновых сапонинов из корней солодки щетинистой. Химия природных соединений, № 5, 1968 (в печати).

7. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО. Материалы к химической характеристике корней солодки щетинистой. Растительные ресурсы, 1969, т. V, вып. 2 (в печати).

8. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО, Г. И. ГЕРАЩЕНКО. О противовоспалительной активности сапонинов солодки щетинистой. Ученые записки Пятигорского фармацевтического института, т. 7 (в печати).

9. В. Ф. СЕМЕНЧЕНКО, Г. И. ГЕРАЩЕНКО. О содержании нуклеиновых кислот в некоторых органах морских свинок при введении сапонинов солодки щетинистой. Ученые записки Пятигорского фармацевтического института, т. 7 (в печати).

По теме диссертации доложено:

1. Химическое исследование солодки щетинистой. 20-я научная конференция Пятигорского фармацевтического института, 1965.

2. Изучение тритерпеновых сапонинов корней солодки щетинистой. 21-я научная конференция Пятигорского фармацевтического института, 1966.

3. Хроматографический и электрофоретический методы идентификации углеводных остатков тритерпеновых сапонинов. Всесоюзный симпозиум, синтез и анализ лекарственных веществ. Львов, 1966.

4. Основные итоги изучения солодок СССР на 1966 г. 22-я научная конференция Пятигорского фармацевтического института, 1967.

5. О противовоспалительной активности сапонинов солодки щетинистой. Научная конференция, посвященная 25-летию Пятигорского фармацевтического института, 1968.

6. О содержании нуклеиновых кислот в некоторых органах морских свинок при введении сапонинов солодки щетинистой. Научная конференция, посвященная 25-летию Пятигорского фармацевтического института.

7. О правдоподобности присутствия глицирризиновой кислоты в солодке щетинистой. Совещание по вопросам изучения и освоения растительных ресурсов СССР. Новосибирск, 27—30 августа 1968.

8. О динамике накопления тритерпеновых сапонинов в солодке щетинистой. Совещание по вопросам изучения и освоения растительных ресурсов СССР. Новосибирск, 27—30 августа 1968.









