

54
А 89

МИНИСТЕРСТВО МЕДИЦИНСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ СССР
ВСЕСОЮЗНЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

В. В. ПАНИНА

ИССЛЕДОВАНИЕ В ОБЛАСТИ САПОНИНОВ
ДИОСКОРИИ.

Автореферат диссертации на
соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
О. С. МАДАЕВА

СК

Работа выполнена во Всесоюзном научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте им.С.Орджоникидзе.

Научный руководитель: кандидат биологических наук
О.С.МАДАЕВА

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

1. Доктор биологических наук А.Р.ГУСЕВА
2. Кандидат химических наук А.А.ЧЕМЕРИССКАЯ

Ведущее предприятие: Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. С.Орджоникидзе.

Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им.С.Орджоникидзе направляет Вам автореферат диссертации Паниной В.В.: "Исследование в области сапонинов диоскореи", представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук.

Автореферат разослан "10" апреля 1968 г.

Защита намечается "14" мая 1968 г.

Ваши отзывы и замечания в двух экземплярах направляйте по адресу: г.Москва, Зубовская ул.7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Ученый Секретарь Совета
кандидат химических
наук

Р.Г.Глушков

Центральная научная
БИБЛИОТЕКА
Академии наук Киргизской ССР

54
A29

- I -

За последние годы гормональные стероиды приобрели весьма важное значение в медицине, и область их применения чрезвычайно расширилась. Синтетически получены стероидные анальгетики, анаболитики, а также вещества, снижающие содержание холестерина, обладающие сосудорасширяющими свойствами (азо-стероиды) и влияющие на процессы овуляции.

Широко применяемым источником сырья для синтеза гормонов и их производных является стероидные сапонины, имеющие агликон-диосгенин.

Интерес к диосгенину сильно возрос благодаря работам Маркера с сотрудниками, которые показали, что путем расщепления боковой цепи диосгенина может быть превращен в соединении ряда прегнана.

Сапонины диосгенина встречаются преимущественно в корневищах семейства диоскорейных. Наиболее богаты по содержанию диосгенина диоскореи *deltoides*, *floribunda* и *composita* (до 13%).

Кроме того работами Всесоюзного института лекарственных растений установлено, что сапонины диосгенина являются физиологически активными веществами, и лечебные препараты "диоспония" и "полиспонин", представляющие собой сумму сапонинов диоскореи *caucasica* и *polytachua*, рекомендованы Фармакологическим Комитетом для лечения гипертонии и атеросклерозов.

Данная работа посвящена исследованию в области сапонинов диоскорей. Она касается вопросов: количественных мето-

дов определения диосгенина в растительном материале и технических образцах диосгенина, разработки условий гидролиза сапонинов диоскорей с целью максимального получения диосгенина, изучения строения и состава сапонинов диоскорей. *polystachya* и *salsavica*, а также установления наиболее рациональных сроков сбора корневиц этих растений.

Диоскорей, произрастающая на Дальнем Востоке, считавшаяся ранее, как *D. polystachya*, работами Шретера, была определена как *Dioscorea nipponica*. Makino.

Количественное определение диосгенина в сапонилах диоскорей, в техническом диосгенине, соласодине и в траве пяслена.

Для оценки пригодности диоскорей, как источника сырья для производства стероидных гормонов, необходимо было иметь надежный метод анализа содержания диосгенина. Известные весовые методы, описанные Чакраварти, Морисом, Ротроком и др., связаны с неизбежными потерями основного вещества в процессе его выделения. Известные также в литературе колориметрический и спектрофотометрический методы с применением хлорной кислоты и хлористой сурьмы позволяют определять сумму диосгенина и дезоксидиосгенина, но использованные в этих методах цветные реакции стероидов, недостаточно устойчивы.

Мы предложили колориметрический метод определения как суммы диосгенина и дезоксидиосгенина, так и чистого диосгенина в сырье и техническом препарате. Он основан на способности диосгенина, имеющего в молекуле Δ^5 двойную связь, давать

окрашенные растворы при сочетании его с серной кислотой и реактивом Марки (0,5%-ным раствором формальдегида в серной кислоте). Определение чистого диосгенина проводится с применением хроматографии на бумаге.

Специфичность данного реактива была проверена на диосгенине, дезоксидиосгенине, рускогенине и яккагенине.

Установлено, что максимум поглощения окрашенных спиртовых растворов сапонинов находится в области 490 м μ . Интенсивность окраски нарастает в течение первых 100 мин. и остается стабильной в течение последующих 60 мин. Интенсивность окраски подчиняется закону Ламберта-Бера в пределах концентрации 0-160 μ / 2 мл раствора. Используемые нами калибровочные графики, построенные для диосгенина и дезоксидиосгенина, были близки для концентраций 0-80 μ / 2 мл раствора.

Для определения содержания диосгенина в сырье диоскорей корневища нагревают с 2,4 н. соляной кислотой в течение 5 часов. Из просушенного остатка диосгенина и дезоксидиосгенина вывлекают петролейным эфиром (40-60°) и определяют содержание суммы диосгенина и дезоксидиосгенина колориметрическим методом.

Точность предлагаемого метода проверена на образце стандартного диосгенина, а также путем добавления чистого диосгенина к навескам корневиц диоскорей и сравнением с известным весовым методом Мориса ($\pm 5\%$).

Количественное колориметрическое определение содержания чистого диосгенина в образцах технического продукта проводили после предварительного отделения от сопутствующих ему примесей хроматографированием на бумаге в системе изоктан:хло-

роформ:уксусная к-та = 100:4:1 с последующим элирированием диосгенина с бумаги хлороформом.

Содержание диосгенина в образцах технического и чистого соласодина, одного из возможных природных источников сырья для синтеза гормонов, определяли методом, разработанным для образцов технического диосгенина.

Для определения содержания диосгенина в траве паслена предложены весовой метод и колориметрический с применением пластинок с закрепленным слоем силикагеля нСК в системе хлороформ:этилацетат:бензол = 65:35:5 или циклогексан:этилацетат = 1:1.

Гидролиз корневищ диоскореи при высокой температуре.

Для получения диосгенина гидролиз сапонинов диоскореи проводят либо непосредственно в корневищах (способ А), либо предварительно выделяя их из корневищ (способ Б); в последнем случае гидролиз может проходить в присутствии бензола или ксилола (способ В).

По литературным данным, при гидролизе сапонинов в одинаковых условиях кислотности, температуры и продолжительности первые два способа давали примерно одинаковое количество диосгенина. Однако, нами было обнаружено, что количество диосгенина и дезоксидиосгенина, получаемое после гидролиза сапонинов, проводимого в условиях, указанных трех способов, колеблется в зависимости от вида диоскореи. Так после гидролиза сапонинов *D. polystachya* по способу А, Б и В определяемая сумма диосгенина и его производного оставалась

постоянной, а при гидролизе выделенных сапонинов *D. deltoidea* и *D. salsavica*, как в присутствии ксилола, так и без него, сумма диосгенина и дезоксидиосгенина оказалась большей, чем в случае, когда гидролиз сапонинов проводили по способу А. Количество же выделенного чистого диосгенина при гидролизе сапонинов по способу В (в присутствии ксилола) у всех изучаемых видов получали выше на 35-40% по сравнению со способами А и Б.

Таким образом, наибольшее количество чистого диосгенина можно выделить, проводя гидролиз сапонинов по способу В, а более достоверные данные о содержании диосгенина в растении можно получить после гидролиза сапонинов, исчерпывающе выделенных из корневищ.

Для промышленного получения диосгенина гидролиз корневищ (метод А) является более простым и экономичным. В связи с этим перед нами была поставлена задача разработать условия получения максимального количества диосгенина с минимальным образованием дезоксидиосгенина при гидролизе сапонинов непосредственно в корневищах.

Для гидролиза сапонинов мы применяли серную кислоту, которая, как известно, дает меньшую дегидратацию диосгенина, чем соляная кислота. Оказалось, что при нагревании корневищ *D. deltoidea* (индийский образец) при температуре 145-147° в течение 4 часов и при повышении концентрации серной кислоты от 2% до 7% количество выделенного диосгенина увеличивается от 2,19% до 4,17%. Дальнейшее повышение концентрации кислоты до 8-9% приводит к резкому снижению выхода диосгенина

на 2,27%. Повышение концентрации кислоты, а также увеличение продолжительности гидролиза при этой же температуре приводит к значительному осмолению диосгенина.

при температуре 160-162° изменения концентрации кислоты от 1 до 3% не влияет на выход диосгенина (3,92-3,99-4,14%); применение же 5%-ной серной кислоты уменьшает выход диосгенина почти в 2 раза (2,35%) за счет образования побочных продуктов (дезоксидиосгенина и его полимеров).

В ряде вариантов полученные данные подтверждались количественным выделением диосгенина. Было показано, что гидролиз корневищ с 7% серной кислотой при 145-147° или с 3% при 160-162° в течение 4 часов, дает выход диосгенина, близкий к количественному.

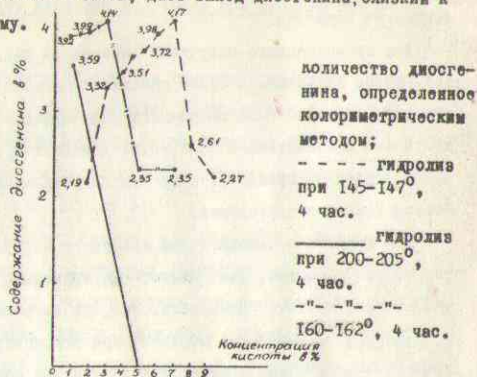


Рис. I. Количество диосгенина, получаемого после гидролиза сапонинов в корневищах.

Разработанные оптимальные условия гидролиза корневищ в течение 4 часов 7%-ной серной кислотой при температуре

146-147° и 3%-ной серной кислотой при температуре 160-162° проверены на образцах осеннего сбора *D. deltoidea* и *D. polystachya*; интродуцированных под Москвой.

Содержание диосгенина в корневищах некоторых видов диоскорей, интродуцированных в Подмоскowie.

При изучении содержания диосгенина в разные периоды вегетации растений (1959-1961 г) в корневищах *D. caucasica* Lrsky, *D. polystachya* Turcz, *D. sp. 4411*, *D. deltoidea* Wall, *D. balcanica* Kovan и *D. villosa* L., отмечено, что максимальное количество диосгенина на единицу веса у всех исследованных видов диоскорей приходится на период массового цветения весенних побегов (см. табл. I).

Таблица I

Среднее содержание диосгенина в корневищах различных видов диоскорей в зависимости от фазы развития растений (колориметрический метод)

Вид диоскорей	Фаза развития растений	Диосгенин (в % от абс.сух.веса)	
		1960г.	1961г.
<i>D. caucasica</i>	Начало вегетации.....	-	0,87
	Массовое цветение весенних побегов.....	1,61	1,42
	Цветение летних побегов.....	1,56	1,23
	Созревание плодов.....	-	1,12
	Конец вегетации.....	0,88	0,89
<i>D. polystachya</i>	Начало вегетации.....	-	0,60
	Массовое цветение весенних побегов.....	1,01	1,05
	Цветение летних побегов.....	0,87	0,79
	Созревание плодов.....	-	0,83
	Конец вегетации.....	0,86	0,71

1	2	3	4
D. sp. № 4411	Начало вегетации.....	-	0,63
	Массовое цветение весенних побегов.....	1,26	0,93
	Цветение летних побегов.....	1,05	0,76
	Созревание плодов.....	-	0,60
	Конец вегетации.....	0,72	0,58
D. balsamica D. deltoidea D. villosa	Конец вегетации.....	-	1,04
		-	2,13
		-	0,51

Несмотря на более высокое содержание диосгенина в период массового цветения весенних побегов, сбор сырья называлось бы экономически более целесообразно проводить в конце вегетации растений, т.к. в это время урожай корневищ (по данным В.И. Киченко) значительно выше, чем в период цветения, и количество чистого диосгенина в пересчете на одно растение (*D. saucasica*, 5-й год жизни) в период конца вегетации выше (2,32 г), чем в период массового цветения (1,78 г) и цветения летних побегов (2,14 г).

Однако с помощью хроматографии на пластинках с бумажной массой в системе бутанол, насыщенный 5% уксусной кислотой = 100:40 показано, что в период цветения растений в корневищах диоскорей (*D. deltoidea*, *saucasica*, *roluacaspua* и др. № 4411) преобладают водорастворимые сапонины; к концу вегетации состав сапонинов меняется, при этом происходит накопление водонерастворимых сапонинов. Наблюдалось также, что скорость гидролиза сапонинов до диосгенина тех диоскорей, корневища которых собраны в эти периоды заметно различалась (см. табл. 2). Этот вывод был сделан на основании сравнения

количества получаемого диосгенина в зависимости от способа гидролиза сапонинов, вида диоскорей и периода вегетации.

Таблица 2.

Выход диосгенина в зависимости от способа гидролиза сапонинов, вида диоскорей и периода вегетации растений.

Вид диоскорей и пол растений	Фаза развития	Содержание диосгенина (в % от в.с. сух. веса)		Относительная разность выхода диосгенина (в %) $\frac{(I-II)100}{II}$
		гидролиз сапонинов в присутствии коллода (I способ гидролиза)	гидролиз корневищ (II способ гидролиза)	
<i>D. saucasica</i> Epiraky	Цветение	1,08	0,99	9
	Конец вегетации	0,79	0,59	34
<i>D. polystachya</i> Turez	Цветение	0,89	0,70	27
	Конец вегетации	0,71	0,55	30
<i>D. deltoidea</i> Wall				
Менюкие	Цветение	3,55	1,83	94
Мужюкие	Цветение	3,79	2,51	51

Относительная разность выхода диосгенина, полученного двумя способами, колеблется в пределах от 9 до 94%. Это может служить доказательством того, что исследуемые виды диоскорей содержат сапонины различного строения, которые гидролизуются с разной скоростью.

В фазе конца вегетации, когда состав сапонинов меняется в сторону накопления в.н.р. сапонинов, разность в выходе диосгенина у всех исследуемых видов диоскорей повышается по

сравнению с растениями, собранными в период цветения растений.

Следовательно, окончательное установление сроков сбора корневищ диоскореи требует дополнительных исследований.

Изучение содержания диосгенина в корневищах диоскореи Кавказской разного возраста в различные фазы развития показало, что содержание диосгенина у растений одного и того же периода вегетации остается постоянным, за исключением конца вегетации, когда с возрастом количество диосгенина снижается.

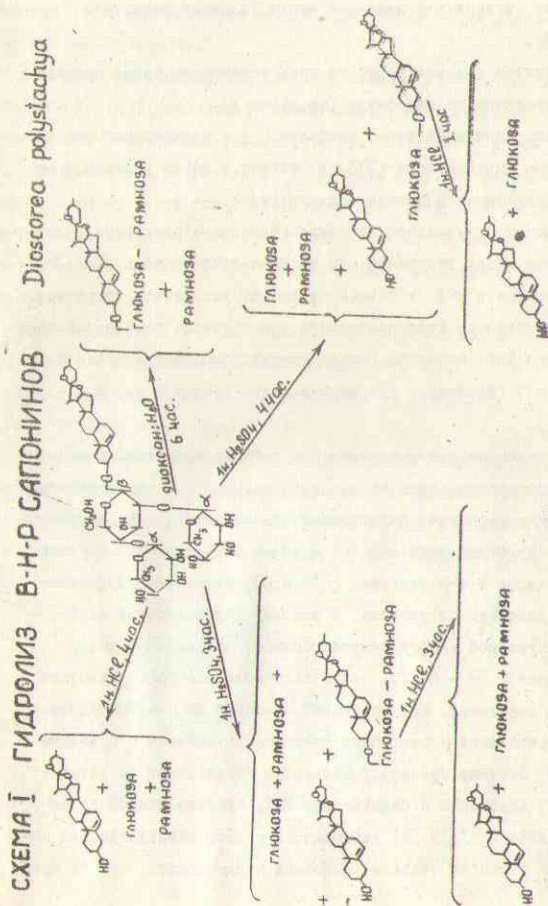
Сапонин *Dioscorea polystachya* Turcz.

Dioscorea caucasica Lipsky.

Из корневищ *D. polystachya* осеннего сбора выделен водонерастворимый (в-н-р) сапонин с R_f 0,85 (пластинка с бумажной массой, система бутанол, насыщенный 5% уксусной кислотой = 100:40).

Полный гидролиз в-н-р сапонина привел к диосгенину, рамнозе и глюкозе. По элементарному составу он представляет собой триозид диосгенина. Состав его ацетата соответствует октаацетату этого гликозида (см. табл. 3). Молекулярный вес, вычисленный по содержанию диосгенина (определенному колориметрически) в сапонине, - 821, что соответствует молекулярному весу триозида. Молекулярный вес сапонина, вычисленный по весу диосгенина (47,39%), полученному после полного гидролиза в-н-р сапонина, - 878. вычислено для $C_{45}H_{70}O_{16} \cdot 0,5 H_2O$ - 878.

Определение количества сахаров, проведенное по методу лагедорна-Иенсена с предварительным разделением сахаров с помощью хроматографии на бумаге, подтвердило состав и соот-



вошение сахаров в углеводной части (глюкоза:рамноза = 1:1,76).

Порядок присоединения сахаров установлен путем проведения ступенчатого гидролиза (см. схема I).

Так, кипячение в-н-р сапонина с I н.серной кислотой в растворе диоксан:вода (1:3) в течение 4 часов привело к образованию смеси мляозиде и диосгенина.

Состав полученного монозида (глюкоза + диосгенин), доказанный путем гидролиза его в смеси диоксан:вода (1:3) с I н раствором HCl в течение 4 часов, указывает, что к молекуле агжикона непосредственно присоединена глюкоза. Молекулярный вес монозида, определенный колориметрическим методом - 611 (вычислено для монозида диосгенина + 1,5 H₂O - 603,41).

Полученный в-н-р сапонин (см.табл.3) идентичен диосцилину, выделенному Лонда из D. tokoko Makino и изученному японскими авторами, доказавшими его строение, как оисрамнозида - моноглюкозида 25D Δ⁵ - 22 α спиростен - 3 β -ола.

Примесь в-н-р сапонина (Rf 0,67) из-за ее малых количеств выделить не удалось. С помощью хроматографии на колошке с бумажной массой получен осадок, обогащенный в-н-р сапонином (Rf - 0,67), после гидролиза которого обнаружен только диосгенин. При сравнении значений Rf этого сапонина с Rf грациллина в различных системах (пластинка с бумажной массой, система бутанол, насыщенный 5% уксусной кислотой = 100:40; пластинка с силикагелем КСК, система хлороформ:метанол:вода = 65:35:10) наблюдалось полное совпадение. на основании этого мы считаем возможным предположить, что он пред-

ставляет собой моноглюкозид-диглюкозида 25D Δ⁵-22 α спиростен-3 β -ол-грациллин.

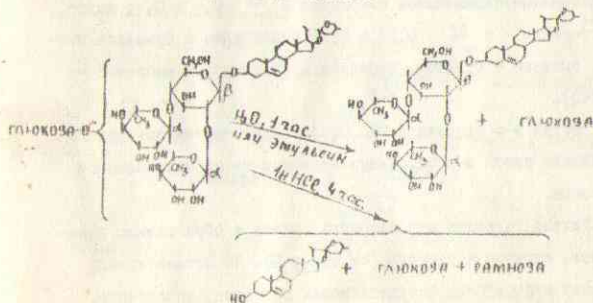
Из смеси водорастворимых (в.р.) сапонинов выделен новый сапонин с Rf 0,55, названный "диосцилином", этот сапонин представляет собой белый порошок, хорошо растворимый в воде, образующий при встряхивании устойчивую пену. По элементарному составу - это гликозид диосгенина, углеводная часть которого состоит из 2 глюкоз и 2 рамноз. Элементарный состав его ацетата соответствует ундека-ацетату выделенного сапонина (см.табл.3).

Молекулярный вес в-р сапонина - 1062 (весовой метод); 968,7 и 987,7 (колориметрический метод); по теории - 1031.

Общее содержание сахара, определенное по лагедорну 63,09% (теоретически - 66%).

Гидролиз соляной кислотой и ферментативский гидролиз диосцилина приводят к образованию диосцилина и глюкозы. Следовательно, диосцилин представляет собой диосцин, у которого имеется еще одна молекула глюкозы (см.схему II).

Схема II. Гидролиз диосцилина.



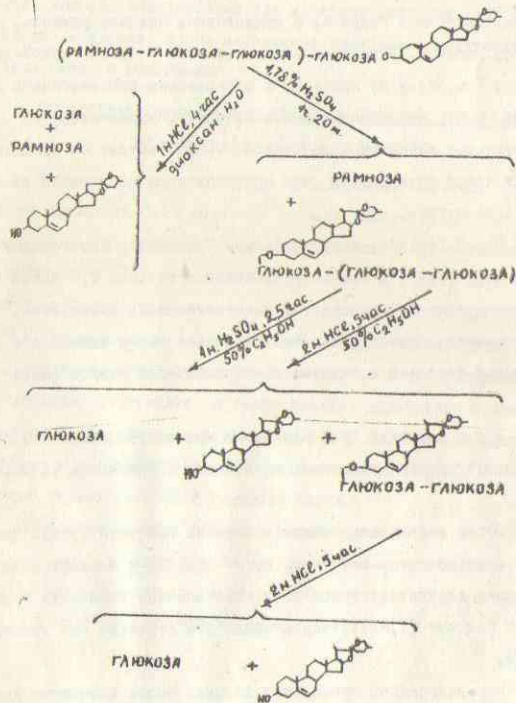
Энзиматический гидролиз диосцинина с примесью в-р сапонинов (Rf 0,45) привел к образованию диосцина и грациллина. Поскольку значение Rf примеси близко к значению Rf диосцинина, можно полагать, что сапонин с Rf 0,45 также является тетразидом диосгенина, а так как при энзиматическом гидролизе смеси сапонинов отщепляется только одна глюкоза и наряду с диосцином проявляется еще пятно грациллина, имеет основание считать, что сапонин с Rf 0,45 идентичен кинкуба-сапонину, выделенному японскими исследователями из *Dioscorea septemloba*. Подтверждением этого служит также совпадение Rf : на пластинке с силикагелем КСК (хлороформ:метанол:вода = 6:35:10) мы получили для диосцинина и грациллина Rf 0,61 и 0,57, а для неизвестного сапонины Rf 0,35. По литературным данным в этой же системе кинкуба-сапонин имеет Rf 0,33.

Изучения сапонинов *Dioscorea caucasica* показало, что они состоят в основном из сапонинов диосгенина с примесью сапонинов гито- и гекогенина. Водонерастворимые сапонины представляют собой смесь сапонинов с Rf 0,6 и 0,7; водорастворимые - с Rf 0,53 и 0,57 (пластинка с бумажной мас-сой, система - бутанол, насыщенный 5% уксусной кислотой = 100:40).

Чистый в-р сапонин с Rf 0,53 получен путем повторного осаждения смеси в-р сапонинов ацетоном из их метанольного раствора.

Полный гидролиз в-р сапонины привел к образованию диосгенина, глюкозы и рамнозы (см.схему III). По элементарному составу в-р сапонин соответствовал тетразиду диосгенина.

СХЕМА III
Гидролиз сапонинов *Dioscorea caucasica*



получен его декацетат. Этот новый, не описанный в литературе сапонин назван "кавказосапоном". Он легко гидролизуется: нагревание его растворов выше 50° приводит к менее полярным просапонинам. При нагревании с водой происходит частичный гидролиз с отделением сначала рамнозы, а затем глюкозы. Кипячение этого сапонина с 1,78% серной кислотой (см. схему №) приводит к образованию просапонина А (Rf 0,6), идентичному в-и-р сапонину, выделенному из экстрактов корневищ *M. caucasicus*. По составу он представляет собой триглюкозид, что подтвердилось получением из него декацетата.

Новый сапонин, названный нами "кавказосапоном" при кипячении с 1 н. серной кислотой в течение 2,5 часов в 50%-ном спирте (см. схему №) дает диглюкозид диосгенина. Этот диглюкозид получен также при кипячении в-и-р сапонина с 2 н. соляной кислотой в течение 5 час. в 50%-ном спирте (см. схему №).

В-и-р сапонины были разделены хроматографированием смеси цветатов этих сапоинов на колонке с триадикатом магния.

После деацетилирования и очистки соответствующих фракций было получено вещество, по Rf (0,67) и элементарному составу идентичное грациллину. Соотношение количеств глюкозы и рамнозы (1,89:1) подтвердило его строение как грациллина.

При дальнейшем промывании колонки более полярными растворителями были выделены цветаты сапоинов, из которых пос-

ле деацетилирования получили осадок кавказопросапонина со следами грациллина.

После гидролиза суммы сапоинов *D. caucasicus*, корневища которой были собраны как в период цветения, так и в конце вегетации, кроме диосгенина выделены и идентифицированы гито- и гекогенин.

Определение примеси диосгенина в образцах соласодина и в траве паслена дольчатого.

В связи с тем, что из производственных образцов соласодина основания была выделена примесь диосгенина, присутствие которого сказывается на качестве получаемого из него ацетата Δ^{5-16} прагнадиенол-3 β -она-20 (АДн), нами были разработаны количественные методы определения диосгенина в образцах соласодина основания с применением хроматографии на оумаге, а также количественный метод определения содержания диосгенина в траве паслена дольчатого с применением пластинок с силикагелем КСХ и с последующим элюированием и колориметрическим определением диосгенина с помощью серной кислоты и реактива Марки.

При обследовании образцов паслена дольчатого из различных мест произрастания было обнаружено, что сольшему содержанию соласодина в траве соответствует и более высокое содержание диосгенина (см. табл. 4).

Характеристика сапонинов и их производных

Вид	Название вещества	Эмпирическая формула	$T_{пл.}, ^\circ C$	$[\alpha]_D^{20}$	ВР	Соотношение сахаров
D. polytrichia	Диосфин (в-р)	$C_{45}H_{72}O_{16} \cdot 0,5 H_2O$	275,5-276 (разл.)	-116,5 (C_2H_5OH)	0,85	2 глюкозы + 1 глюкоза
	Ацетат диосфина	$C_6H_{18}O_{24}$	145-146	+75,66 ($CHCl_3$)		
	Диосфин (в-р)	$C_5H_{18}O_{21}$	202-203 (разл.)	-69,88 (CH_3OH)	0,15	2 глюкозы + 2 рамнозы
	Ацетат диосфина	$C_7H_{10}O_{33}$	121,5-122,5	+42,54 ($CHCl_3$)		
D. caspatica	Кавказосапонин (в-р)	$C_5H_{18}O_{22} \cdot 3 H_2O$	218-220 (разл.)	-62,35 (пиримидин)	0,53	рамноза + 3 глюкозы
	Ацетат кавказосапонина	$C_7H_{10}O_{34}$	126-128	-34,97 ($CHCl_3$)		
	Кавказопросоптегин	$C_{45}H_{72}O_{18} \cdot 1/2 H_2O$	242-247 (разл.)	-50,35 (пиримидин)	0,6	3 глюкозы
	Ацетат кавказопросоптегина	$C_6H_{18}O_{28}$	165-164	-25,54 ($CHCl_3$)		
	Диглюкоид	$C_{39}H_{62}O_{23} \cdot H_2O$	262-264 (разл.)		0,8	2 глюкозы
	Ацетат диглюкоида		219-221			

Таблица 4.

Место произрастания	Содержание солидолина в % на абс.сух. вес	Содержание диосгенина в % на абс.сух. вес		Соотношение солидолина и диосгенина $\mu = \frac{A}{C}$
		всесолевой метод	колориметрический метод	
	A	B	C	D
Украинская 30 С				
стебли		0,014	0,015	
листья	1,02	0,14	0,12	10
Крымская 30 С (стебли, листья)	0,52	0,034	0,032	16,3
Кавказская 30 С	1,92	0,24	0,22	8,7
Чимкентская обл. (стебли, листья)				
Краснодарская 30 С (стебли, листья)	1,21	-	0,16	7,8
	1,48	-	0,18	8,2

ВЫВОДЫ:

- Разработаны методы количественного колориметрического определения диосгенина:
 - в корневищах диоскорей (*Dioscorea*);
 - в образцах технического диосгенина с применением хроматографии на бумаге;
 - в траве паслёна дольчатого (*Solanum laciniatum* Ait) с применением хроматографии на пластинках с закрепленным слоем силикагеля КСК;
 - в образцах солидолина основания с применением хроматографии на бумаге.
- Разработаны условия гидроблиза корневых диоскорейных

сокой температуре, при которых получается наибольшее количество диосгенина с минимальным содержанием примеси дезоксидиосгенина.

3. Показана зависимость количества получаемого диосгенина от способа гидролиза сапонинов различных видов диоскорей, собранных в период цветения и конца вегетации растений.
4. Изучена динамика накопления диосгенина в корневищах различных видов диоскорей (*D. caucasica* Lipsky, *D. polytachya* Turcz., *D. br. 44 II*, *D. deltoidea* Wall.) по фазам вегетации растений. Показано, что наибольшее количество диосгенина на единицу веса корневищ приходится в период массового цветения, но за счет увеличения веса корневищ к осени общее количество диосгенина в пересчете на одно растение достигает максимума.
5. Показано, что корневища диоскорей разного возраста (2-х и 6-ти летние) имеют одинаковое процентное содержание диосгенина в течение всего вегетационного периода, но к концу вегетации снижается содержание его у растений более старшего возраста.
6. Показано, что в корневищах диоскорей, собранных в период цветения растений, в основном содержатся водорастворимые сапонины; к концу вегетации состав сапонинов меняется в сторону накопления водонерастворимых.
7. Из корневищ *D. caucasica* выделены два новых сапонины: водорастворимый - кавказосапонин, представляющий собой рамнозидотриглюкозид- $25 D \Delta^5 - 22 \alpha$ спиростен- 3β -ол,

- и водонерастворимый - кавказосапонин - глицозотриозид - $25 D \Delta^5 - 22 \alpha$ спиростен- 3β -ол. Обнаружена примесь известного ранее рамнозидогликозида- $25 D \Delta^5 - 22 \alpha$ спиростен- 3β -ола (грациллина).
8. Из корневищ *D. caucasica*, собранных в период цветения и конца вегетации, кроме диосгенина выделены примеси гитогенина и гекогенина.
 9. Из корневищ *D. polytachya* выделен известный ранее водонерастворимый сапонин-диосцин, являющийся бисрамнозидо-глицозидо- $25 D \Delta^5 - 22 \alpha$ спиростен- 3β -ол и новый водорастворимый сапонин - диосцинин, представляющий собой глицозидо-бисрамнозидо-глицозидо- $25 D \Delta^5 - 22 \alpha$ спиростен- 3β -ол. На основании значений R_f показано, что имеется примесь грациллина и кикуба-сапонины.
 10. Показано, что в *Solanum laciniatum* Ait различных зон произрастания содержится от 0,03 до 0,24% диосгенина, причем в образцах наиболее богатых сахарозой, находится наибольшее количество диосгенина (казахстанские образцы паслена содержат 0,24% диосгенина, крымские - 0,03%).

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. В.В.Панина, П.И.Ловкарев, Мед.пром.СССР, № 6, 45 (1963).
2. О.С.Мадаева, В.К.Рижкова, В.В.Панина, Мед.пром.СССР, № 9, 9 (1963).
3. О.С.Мадаева, В.И.Киченко, В.В.Панина, Мед.пром.СССР, № 4, 44 (1964).
4. В.В.Панина, О.С.Мадаева, Мед.пром.СССР, № 3, 54 (1964).
5. В.В.Панина, Мед.пром.СССР, № 6, 55 (1965).
6. В.И.Киченко, В.В.Панина, Раст.ресурсы, вып.3, № 1, 397 (1965).
7. В.В.Панина, Т.Б.Ишенинова, Мед.пром.СССР, № 8, 47 (1966).
8. В.В.Панина, О.С.Мадаева, Хим.фарм.д., № 6, 34 (1967).
9. В.В.Панина, О.С.Мадаева, Хим.фарм.д., № 5, 38 (1967).
10. О.С.Мадаева, В.К.Рижкова, В.В.Панина, Х.и.С., № 3, 155 (1967).
11. О.С.Мадаева, В.К.Рижкова, В.В.Панина, Х.и.С., № 4, 237 (1967).
12. В.В.Панина, В.М.Гольдберг, О.С.Мадаева, Раст.ресурсы, в печати.

Подписано к печати 27.И.68 г.
Формат 60x92/16, объем 2 печ.листа.Тир.200.Зак.191.
Д-94614

ВНИХФИ
Типография ХОЗУ Министра СССР
г.Москва, д-147, Таганская ул., 58