

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1433>
УДК 543.544.943.3.068.7



Оригинальная статья / Research article

Предварительный качественный анализ растительных образцов методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии на присутствие стероидных сапогенинов некоторых представителей семейств диоскорейные, бобовые, лютиковые, мелантьевые и норичниковые

А. Е. Суханов¹✉, И. А. Крылов¹, В. В. Сепп², К. С. Бакулин²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России). 163001, Россия, Архангельская область, г. Архангельск, пр. Троицкий, д. 51

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России). 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

✉ Контактное лицо: Суханов Антон Евгеньевич. E-mail: docpharmanton@hotmail.com

ORCID: А. Е. Суханов – <https://orcid.org/0000-0002-6214-307X>; И. А. Крылов – <https://orcid.org/0000-0003-3042-4229>;
В. В. Сепп – <https://orcid.org/0009-0009-7055-6761>; К. С. Бакулин – <https://orcid.org/0009-0007-8138-7583>.

Статья поступила: 27.02.2023

Статья принята в печать: 22.02.2024

Статья опубликована: 22.02.2024

Резюме

Введение. В статье представлены результаты оригинального исследования, проведенного с использованием метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ), различных растительных образцов (воздушно-сухого сырья) представителей семейств диоскорейные, бобовые, лютиковые, мелантьевые, норичниковые.

Цель. Провести предварительный качественный анализ методом ВЭТСХ состава стероидных сапогенинов в гидролизированных экстрактах, полученных из растительных образцов надземных и подземных органов некоторых представителей семейств диоскорейные, бобовые, лютиковые, мелантьевые и норичниковые.

Материалы и методы. Извлечение из предварительно обезжиренного сырья проводили 50%-м водным изопропанолом (х.ч.) в ванне ультразвуковой с последующим проведением кислотного гидролиза О-гликозидных связей, упариванием и перерастворением сухого остатка в 99%-м метаноле (х.ч.); очищали от взвешенных частиц фильтрованием через фильтры с диаметром перфораций 20 мкм. ВЭТСХ проводили на аппаратном комплексе CAMAG (Швейцария) с использованием пластин HPTLC Aluminium sheets Silica gel 60 F254, 20 × 20 см, которые разрезали до размера 20 × 10 см.

Результаты и обсуждение. После проведения сканирующей денситометрии при 254 нм было обнаружено, что разделение изопропанольных извлечений с последующим перерастворением в крепком метаноле в данной системе растворителей позволяет достаточно приемлемо провести разделение и идентификацию исследуемых соединений. Сравнение треков растительных экстрактов проводили со стандартными образцами стероидных сапогенинов, метанольные растворы которых наносили на одно пятно-штрих трека № 1 при условии, что они имеют различные индексы R_f и окраску после дериватизации.

Заключение. Был предварительно идентифицирован диосгенин в растительных экстрактах корневищ с корнями диоскорей японской и кавказской и в семенах пажитника сеного. Сарсасапогенин верифицирован в экстрактах плодов софоры японской, тигогенин – в экстрактах семян пажитника сеного, траве прострела раскрытого и траве вероники лекарственной. Ямогенин обнаружен в экстрактах семян пажитника сеного и траве вероники лекарственной. Данная работа носит поисковый характер с оценкой присутствия тех или иных сапогенинов по их сапогенинам в выбранных экстрактах. Будет оптимизирована процедура разделения в рамках ВЭТСХ и выбраны другие способы детектирования для однозначной оценки совместного присутствия изучаемых сапогенинов с примерно одинаковыми оттенками окрашивания после дериватизации и совпадающими индексами удерживания: есть пары стероидных сапогенинов, которые имеют одинаковое удерживание, мы решили сгруппировать их в смеси так, чтобы было разделение внутри группы и последующее сравнение с оригинальными экстрактами давало бы возможность идентифицировать те или иные сапогенины в таких экстрактах.

Ключевые слова: диосгенин, тигогенин, гекогенин, неорускогенин, рускогенин, сарсасапогенин, тигогенин, ямогенин, ВЭТСХ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. Е. Суханов, И. А. Крылов, В. В. Сепп, К. С. Бакулин выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. Подготовили текст рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке государственного задания № 056-00017-21-00 от 17.12.2021.

Для цитирования: Суханов А. Е., Крылов И. А., Сепп В. В., Бакулин К. С. Предварительный качественный анализ растительных образцов методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии на присутствие стероидных сапогенинов некоторых представителей семейств диоскорейные, бобовые, лютиковые, мелантьевые и норичниковые. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(1):159–174. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1433>

© Суханов А. Е., Крылов И. А., Сепп В. В., Бакулин К. С., 2024

© Sukhanov A. E., Krylov I. A., Sepp V. V., Bakulin K. S., 2024

Preliminary Qualitative Analysis of Plant Samples by High-performance Thin-layer Chromatography for the Presence of Steroid Sapogenins of Some Representatives of the Dioscoreaceae, Fabaceae, Ranunculaceae, Melanthiaceae, Scrophulariaceae

Anton E. Sukhanov¹✉, Ilia A. Krylov¹, Vladislav V. Sepp², Konstantin S. Bakulin²

¹ Northern State Medical University, 51, Troitsky ave., Arkhangelsk, Arkhangelsk region, 163001, Russia

² N. I. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov RNRMU), 1, Ostrovityanova str., Moscow, 117997, Russia

✉ Corresponding author: Anton E. Sukhanov. E-mail: docpharmanton@hotmail.com

ORCID: Anton E. Sukhanov – <https://orcid.org/0000-0002-6214-307X>; Ilia A. Krylov – <https://orcid.org/0000-0003-3042-4229>;
Vladislav V. Sepp – <https://orcid.org/0009-0009-7055-6761>; Konstantin S. Bakulin – <https://orcid.org/0009-0007-8138-7583>.

Received: 27.02.2023

Revised: 22.02.2024

Published: 22.02.2024

Abstract

Introduction. Results of original research carried out by means of high performance thin layer chromatography (HPTLC) of various plant samples (air-dry raw material) of Dioscoreaceae, Ranunculaceae, Fabaceae, Melanthiaceae, Scrophulariaceae families are presented in this article.

Aim. To carry out preliminary qualitative analysis by HPTLC method of steroidal sapogenins composition in hydrolyzed extracts, obtained from vegetative samples of above-ground and underground organs of some Dioscoreaceae, Ranunculaceae, Fabaceae, Melanthiaceae, Scrophulariaceae families.

Materials and methods. Extraction from pre-dehydrated raw materials was carried out with 50 % aqueous isopropanol (c.p.) in an ultrasonic bath, followed by acidic hydrolysis of O-glycoside bonds, evaporation and redissolution of dry residue in 99 % methanol (c.p.); purification from suspended solids by filtering through filters with 20 µm perforation diameter. HPTLC was performed on apparatus complex CAMAG (Switzerland) using HPTLC Aluminium sheets Silica gel 60 F254 plates 20 × 20 cm, which were cut to the size 20 × 10 cm.

Results and discussion. After scanning densitometry at 254 nm, we found that the separation of isopropanol extracts, followed by redissolution in strong methanol in this solvent system allows a fairly acceptable separation and identification of the compounds studied. Comparison of the tracks of plant extracts was performed with standard samples of steroid sapogenins, whose methanol solutions were applied to one stain-strobe of track 1, provided that they had different R_f indices and coloration after derivatization.

Conclusion. Diosgenin was identified in plant extracts of rhizomes and roots of *Dioscorea nipponica* and *Dioscorea caucasica* and in seeds of *Trigonella foenum-graecum* preliminarily. Sarsasapogenin was verified in extracts of fruits of *Sophora japonica*, tigogenin in extracts of seeds of *Trigonella foenum-graecum*, herb of *Pulsatilla patens* and herb of *Veronica officinalis*. Yamogenin was detected in extracts of seeds of *Trigonella foenum-graecum* and herb of *Veronica officinalis*. This work is exploratory in nature, assessing the presence of certain saponins by their sapogenins in selected extracts. We will optimize the HPLC separation procedure and choose other detection methods to unambiguously assess the co-presence of the studied sapogenins with approximately the same staining shades after derivatization and matching retention indices: there are pairs of steroidal sapogenins that have the same retention, we decided to group them in mixtures so that there would be separation within the group and subsequent comparison with the original extracts would make it possible to identify those or other sapogenins in such extracts.

Keywords: diosgenin, gitogenin, hecogenin, neoruscogenin, ruscogenin, sarsasapogenin, tigogenin, yamogenin, HPTLC

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Anton E. Sukhanov, Ilia A. Krylov, Vladislav V. Sepp, Konstantin S. Bakulin performed the experimental part and interpreted the results. They prepared the text of the manuscript. All authors participated in the discussion of the results.

Funding. The work was carried out with the financial support of the state task № 056-00017-21-00 from 17.12.2021.

For citation: Sukhanov A. E., Krylov I. A., Sepp V. V., Bakulin K. S. Preliminary qualitative analysis of plant samples by high-performance thin-layer chromatography for the presence of steroid sapogenins of some representatives of the dioscoreaceae, fabaceae, ranunculaceae, melanthiaceae, scrophulariaceae. *Drug development & registration*. 2024;13(1):159–174. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1433>

ВВЕДЕНИЕ

Стероидные сапогенины – это агликоны (стероидные компоненты) стероидных сапонинов. По структуре стероидные сапонины и, соответственно, их сапогенины делятся на шесть групп: спироستانоловые, изоспироستانоловые, фураностаноловые, прегнановые, холестановые и эргостановые [1, 2]. Спироستانоловые сапонины и их сапогенины являются

внутримолекулярными кетальными производными 16,26-дигидроксид-22-кетостероида, состоящего из 27 атомов углерода, которые формируют углеродный скелет спиростана, в котором фурановое кольцо (кольцо E) и пирановое кольцо (кольцо F) соединены в спирокетальную форму у C-22. Общая формула спироستانоловых стероидных сапонинов представлена на рисунке 1.

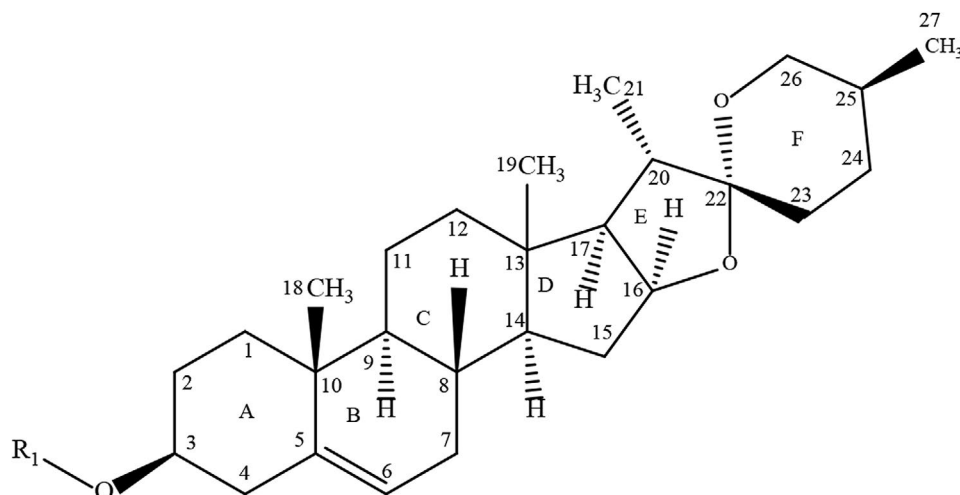


Рисунок 1. Общая формула спиростанолевых стероидных сапонинов

Figure 1. General formula for spirostanol steroid saponins

Стероидный каркас спиростанолевых агликонов находится в транс-положениях в стыках В/С и С/Д, но также они могут существовать еще в трех конфигурациях А/В: 5 α -Н, цис-(5 β -Н) и Δ^5 . Конфигурация при С-22 может быть двух типов: R и S. В природе обнаруживаются как 22R-, так и 22S-конфигурации у 22 атома углерода спиростановой системы. Что же касается стереоконфигурации молекулы при С-25, то существуют три основные конфигурации: β -ориентированная метильная группа (25S, 25L или neo), α -ориентированная метильная группа (25R, 25D или iso) и $\Delta^{25(27)}$. Соединения 25R и 25S существуют примерно в соотношении 3:1. Производные фураностанола находятся преимущественно в свежих растениях и являются предшественниками производных спиростананола. Гликозидная ОН-группа при С-26 способна вступать во внутримолекулярное взаимодействие (циклизация) под воздействием β -гликозидазы [3–6].

Изоспиростанолевые сапонины и их сапогенины также являются внутримолекулярными кетальными производными 16,26-дигидрокси-22-кетостероида, состоящего из 27 атомов углерода, которые формируют углеродный скелет спиростана, в котором фурановое кольцо (кольцо E) и пирановое кольцо (кольцо F) соединены в спирокетальную форму у С-22. При этом метильная группа у С-25 расположена под плоскостью молекулы. Являются монодесмозидными гликозидами, характеризующимися наличием экваториально ориентированного метила или гидроксиметила (С-27) на F-кольце. Сапонины изоспиростанового типа по структуре сапогенинов можно разделить на четыре подтипа: диосгенин, лаксогенин, тигогенин и смилагенин. Вариации этих сапогенинов в основном включают дегидрирование между С-5 и С-6, карбонилирование при С-6, гидроксильное при С-17 или С-27 и цис-/транс-слияние между кольцами А

и В [2]. Общая формула изоспиростанолевых стероидных сапонинов представлена на рисунке 2.

Сапонины фураностанового типа в форме гликозидов могут быть дважды гликозилированы. Нативное гликозилирование происходит по ОН-гликозидным группам у С-3 и у С-26. Сапонины спиростанового типа в форме гликозидов гликозилированы по ОН-группе только лишь у С-3. Циклизация фураностанолов в спиростанолы происходит при дегидрировании ОН-группы у С-22. Стероидные гликозиды лишь спиростанового типа обладают повышенным пенообразованием, токсичностью для жабродышащих земноводных и гемолитической активностью [7]. Общая формула фураностановых стероидных сапонинов представлена на рисунке 3.

Стероидные сапонины и их сапогенины прегнанового типа – это С-21-стероидные сапонины с сахарным хвостом, связанным со спиртовой гидроксильной группой сапогенина, чаще всего у С-3. Общая формула прегнановых стероидных сапонинов представлена на рисунке 4.

Стероидные сапонины и их сапогенины холестанового типа. Общая формула холестановых стероидных сапонинов представлена на рисунке 5.

Стероидные сапонины и их сапогенины эргостанового типа. Общая формула эргостановых стероидных сапонинов представлена на рисунке 6.

Агликоны стероидных сапонинов – стероидные сапогенины – в свободном состоянии в растительных тканях встречаются редко. В растительных экстрактах стероидные сапогенины получают путем кислотного гидролиза О-гликозидных связей у С-3.

Как показал ряд научных исследований, стероидные гликозиды и их сапогенины, в частности диосгенин, обладают противораковым действием, оказывая цитотоксический эффект на клетки разных типов злокачественных опухолей, иммуноотропным

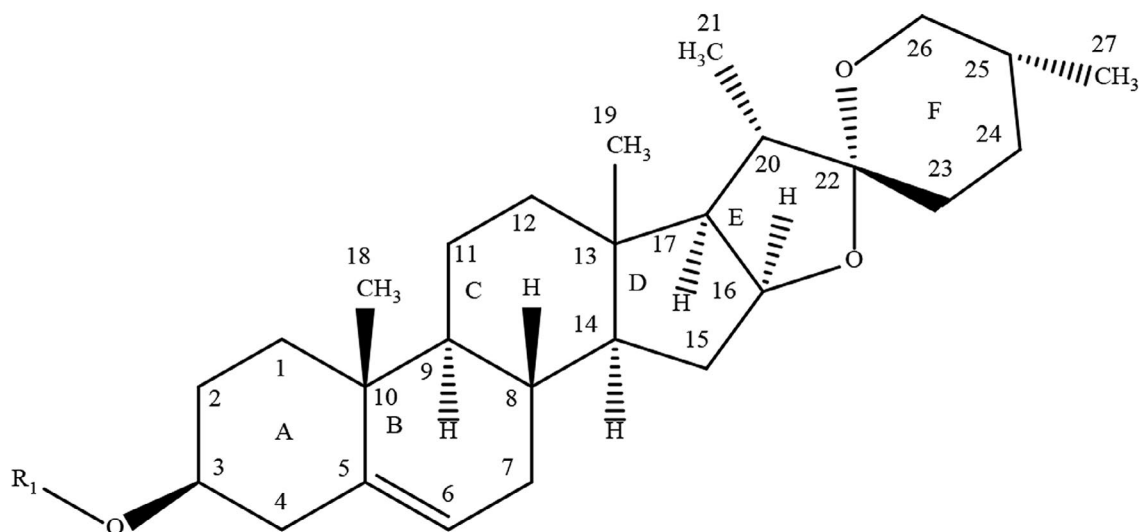


Рисунок 2. Общая формула изоспиростановых стероидных сапонинов

Figure 2. General formula for isospirostanol steroid saponins

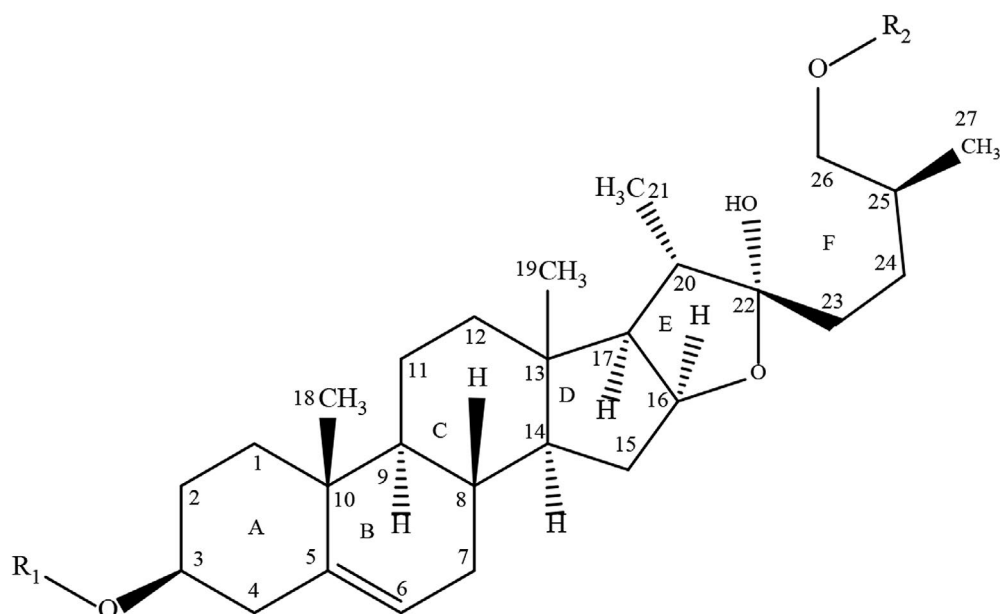


Рисунок 3. Общая формула фураностаноловых стероидных сапонинов

Figure 3. General formula for furostanol steroid saponins

действием [8–10]. Таким образом, изучение природных источников получения сапонинов и способов их выделения и очистки из нативного сырья представляется довольно актуальным.

Цель исследования – провести предварительный качественный анализ методом ВЭТСХ состава стероидных сапоненинов в гидролизированных экстрактах, полученных из растительных образцов наземных и подземных органов некоторых представителей семейств диоскорейные, бобовые, лютиковые, мелантьевые и норичниковые.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проанализирована база данных по биомедицинским исследованиям PubMed через личный кабинет на портале EndNote (NLM)¹ с применением фильтров «any field» с использованием ключевых словосочетаний «HPTLH» и «high performance thin layer

¹Sign in to continue with EndNote. Available at: <https://www.myendnoteweb.com/EndNoteWeb.html>. Accessed: 27.02.2023.

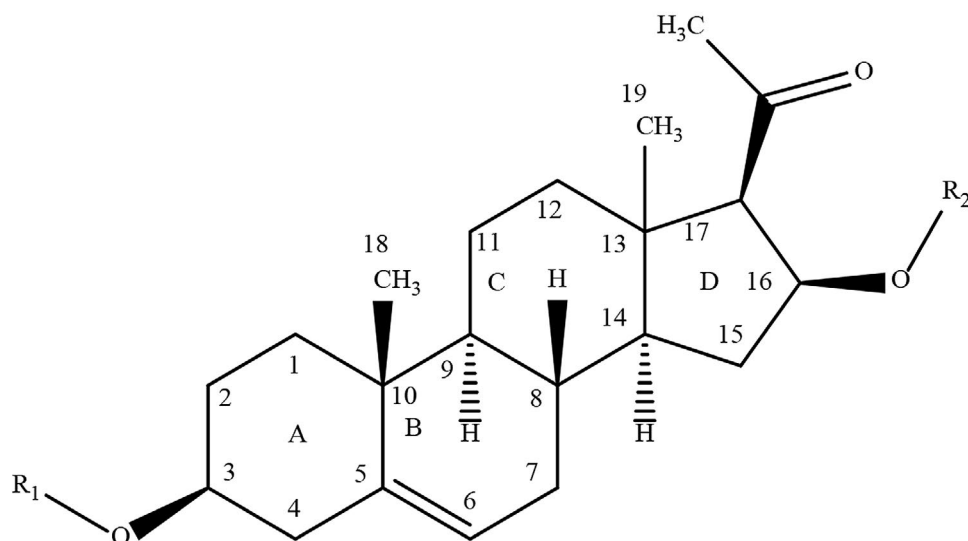


Рисунок 4. Общая формула прегнановых стероидных сапонинов

Figure 4. General formula for pregnane steroid saponins

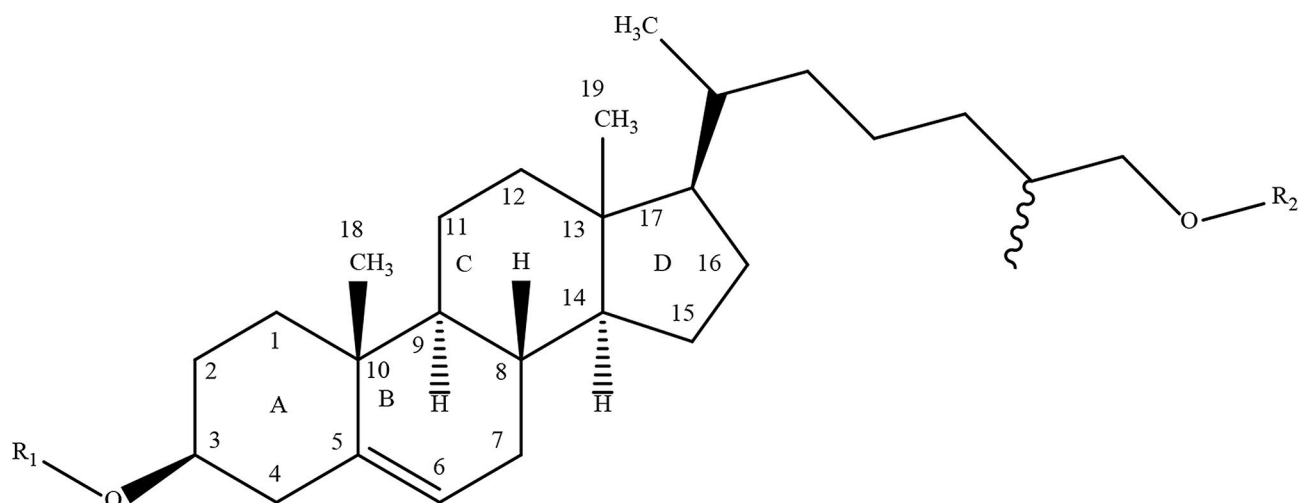


Рисунок 5. Общая формула холестерановых стероидных сапонинов

Figure 5. General formula for cholestane steroid saponins

chromatography» через оператор «and» за период с 1961 по 2023 календарные годы по использованию метода ВЭТСХ при анализе растительных экстрактов на изучаемые стероидные сапогенины.

В ходе наукометрического анализа было обнаружено всего 5 научных статей по использованию ВЭТСХ при анализе экстрактов за отчетный период (таблица 1). Из них 3 статьи были посвящены изучению содержания флавоноидов и изофлавоноидов как «отпечатков пальцев» представителей данных семейств.

В качестве исходного материала исследования использовалось воздушно-сухое сырье коммерче-

ски доступных растительных образцов: представителей семейства диоскорейные [корневища с корнями диоскорей ниппонской (серия 010417, ООО «Мариславна», Россия), кавказской (без серии, ООО «Шалфей», Россия), корни диоскорей (тамуса) обыкновенной (без серии, ООО «Шалфей», Россия)]; семейства бобовые [трава астрагала перепончатого (без серии, ООО «Беловодье», Россия), донника лекарственного (без серии, ИП Теплова К. А., Россия), козлятника лекарственного (без серии, ООО «Шалфей», Россия), корни копеечника корончатого (без серии, ООО «Беловодье», Россия), семена пажитника сеного (серия

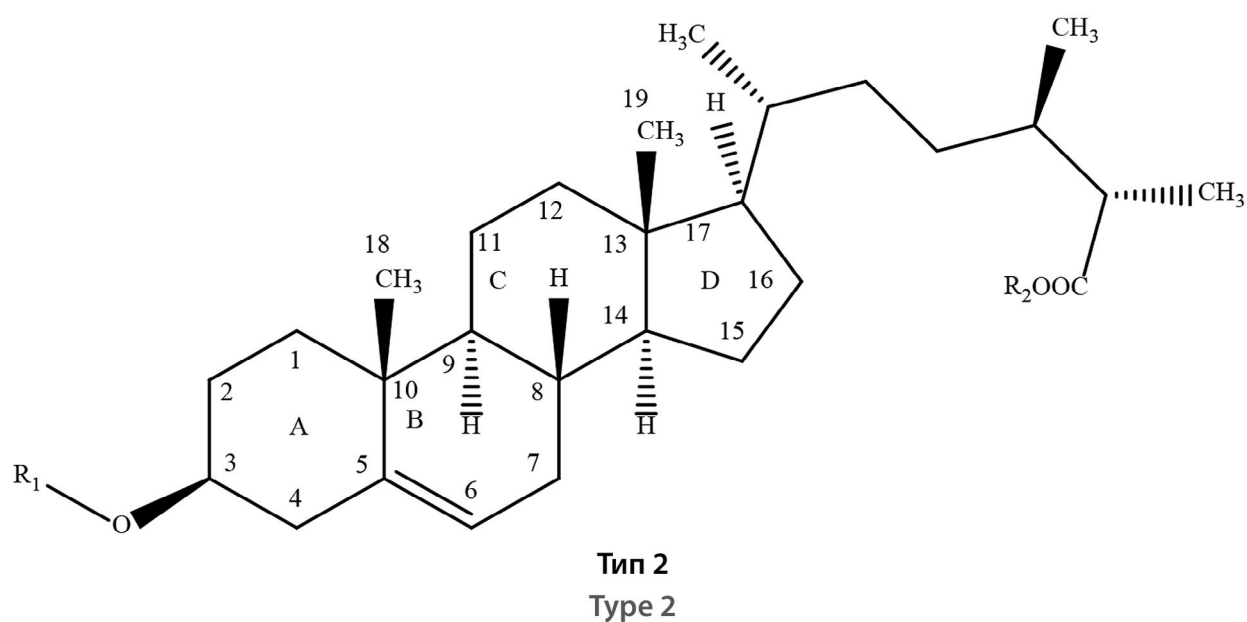
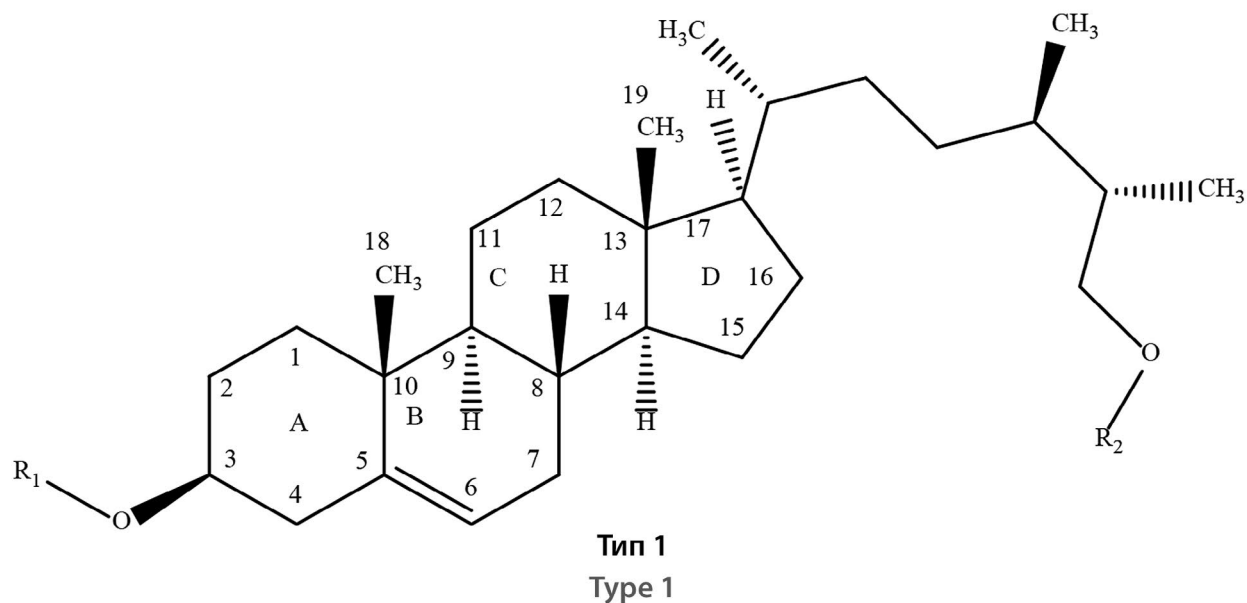


Рисунок 6. Общая формула эргостановых стероидных сапонинов

Figure 6. General formula for ergostane steroid saponins

010922, ООО «Шалфей», Россия), плоды софоры японской (без серии, ООО «Беловодье», Россия); семейства лютиковые [трава клопогона кистевидного (без серии, ООО «Центр-Огородник», Россия), ломоноса шестилепесткового (без серии, ООО «Старослав», Россия), прострела раскрытого (партия 0922, ООО «Компания Хорст», Россия), корневища с корнями морозника кавказского (партия 0922, ООО «Компания Хорст», Россия), пиона уклоняющегося (партия 0922 без серии, ИП Теплова К. А., Россия)]; се-

мейства мелантьевые [корневища с корнями чемерицы Лобеля (серия 08, ООО «Старослав», Россия)]; семейства норичниковые [трава вероники лекарственной (без серии, ООО «Центр-Огородник», Россия)]. Выбор представителей данных семейств был основан на ранее проведенном наукометрическом анализе публикационной активности авторов по анализу растительных стероидных соединений базы Scopus за период с 1952 по 2015 гг. [12].

Таблица 1. Наукометрический анализ оригинальных статей по использованию ВЭТСХ на стероидные сапогенины

Table 1. Scientometric analysis of original articles on the use of HPTLC on steroidal sapogenins

Изучаемый вид растений и его сырье The plant species under study and its raw materials	Идентифицированный стероидный сапогенин Identified steroidal sapogenin	Индексы удерживания Rf Retention indices Rf	Источник References
Семейство бобовые Family Fabaceae			
Семена пажитника сенного Fenugreek seeds	Диосгенин Diosgenin	0,69	[11]
	Тригонеллин Trigonellin	0,40	

Для приготовления стандартных образцов (растворитель – метанол) использовали коммерчески доступные стандартизованные образцы стероидных сапогенинов с установленной степенью чистоты (таблица 2).

Экстракцию и первичную очистку проводили согласно описанной в научной литературе методике выделения стероидных сапонинов из растительного сырья, интенсификация процесса извлечения целевых компонентов осуществлялась за счет использования ультразвука [13]. Методика проведения экстракции: в полипропиленовую коническую пробирку с винтовой крышкой и делениями размером 17 мм на 107 мм (ООО «МиниМед», Россия) номинальным объемом 10 мл вносили навеску измельченного растительного материала массой около 0,1 г (точная навеска). С целью обезжиривания растительного материала добавляли 8 мл дихлорметана 99%-го х.ч., пробирку закрывали навинчивающейся крышкой и помещали в ультразвуковую ванну ВУ-09-Я-ФП-03 (ООО «Ферропласт Медикал», Россия), заполненную до рекомендуемого уровня водой. Параметры озвучивания при обезжиривании: температура воды +35 °С (температура кипения 99%-го дихлорметана х.ч. – 40 °С), время озвучивания – 60 мин, резонансная частота ультразвуковых колебаний – 40 кГц. После озвучивания образцы центрифугировали на центрифуге ОПл-8-УХЛ 4.2 (ООО «ТНК Дастан», Киргизия) в течение 10 минут при 4000 об/мин. После окончания центрифугирования дихлорметановый экстракт отбрасывали, остатки в сырье удаляли путем упаривания в сухожаровом шкафу при температуре 40 °С.

В эту же пробирку помещали 2 мл 50%-го водного раствора изопропанола х.ч. на воде деионизированной. Помещали пробирку в ячейку корзины ультразвуковой ванны, заполненной водой до рекомендуемого уровня. Экстракцию стероидных сапонинов проводили тремя порциями объемом 2 мл 50%-го водного раствора изопропанола х.ч., которые

после каждого озвучивания объединяли. Параметры озвучивания при экстракции: температура воды +60 °С (температура кипения 50%-го водного раствора изопропанола х.ч. – 82 °С), время озвучивания для каждой порции изопропанола – 30 мин, резонансная частота ультразвуковых колебаний – 40 кГц [14, 15].

После каждой экстракции 2 мл 50%-го раствора изопропанола х.ч. в среде ультразвука получали мутную изопропаноловую взвесь растительных тканей. Для удаления взвешенных частиц использовали центрифугирование в течение 5 минут при 4000 об/мин. Полученный изопропаноловый супернатант (надосадочную жидкость) декантировали во вторую полипропиленовую коническую пробирку с винтовой крышкой и делениями, куда декантировали последующие изопропаноловые супернатанты общим объемом 6 мл экстракта.

Для проведения кислотного гидролиза О-гликозидных связей стероидных сапонинов к 6 мл объединенного изопропанолового супернатанта приливали 6 мл смеси 3 мл 1 М раствора кислоты хлористоводородной и 3 мл 50%-го водного раствора этанола х.ч. и выдерживали при температуре 80 °С в сухожаровом шкафу в течение 3 часов [14, 15].

ВЭТСХ выполняли на автоматизированном комплексе CAMAG (Швейцария) с использованием пластин на алюминиевой фольге HPTLC Aluminium sheets Silica gel 60 F254, 20 × 20 см (Merck KGaA, Германия), которые разрезали до размера 20 × 10 см. Нанесение метанольных растворов стандартов стероидных сапогенинов, а также изопропанол-метанольных экстрактов на пластины осуществляли при помощи устройства CAMAG® Automatic TLC Sampler 4 спреевым штрихом объемом 2 мкл, длина штриха – 6 мм, распылением с шириной трека 7 мм, с отступом слева 10 мм и отступом от нижнего края пластины 8 мм. Количество треков – 18, расстояние между треками – 10 мм. Расстояние от левого края пластины: 1 трек – 15 мм, 2 трек – 25 мм, 3 трек – 35 мм, 4 трек – 45 мм, 5 трек – 55 мм, 6 трек – 65 мм, 7 трек – 75 мм, 8 трек – 85 мм, 9 трек – 95 мм, 10 трек – 105 мм, 11 трек – 115 мм, 12 трек – 125 мм, 13 трек – 135 мм, 14 трек – 145 мм, 15 трек – 155 мм, 16 трек – 165 мм, 17 трек – 175 мм, 18 трек – 185 мм. Техника разделения – восходящая.

Элюирование проводили в устройстве CAMAG® Automatic Developing Chamber 2 с блоком контроля влажности при 31,5 % (насыщенный раствор натрия хлорида), насыщение (saturation) камеры 20 мин (с фильтровальной бумагой) – 25 мл, элюирование (development) – 10 мл, сушка – 5 мин. Относительная влажность в камере – до 31,5 %. Температура в камере – 24 °С. Элюент: комплексный реагент – толуол 99,5%-й х.ч.:хлороформ 99,5%-й х.ч.:ацетон 99,5%-й х.ч. (2:8:2 по объему соответственно, или 17 мл – 66 мл – 17 мл) с насыщением камеры 20 мин. Суммарный объем – 100 мл. Дистанция фронта комплексного реагента – 70 мм от линии старта или 80 мм от нижнего края пластины.

Таблица 2. Стандартные образцы стероидных сапогенинов
Table 2. Reference samples of steroid sapogenins

Название субстанции стандартного образца стероидного сапогенина Substance name of the steroidal standard sample of sapogenin	CAS-номер CAS number	Чистота субстанции стандартного образца стероидного сапогенина по данным сертификата анализа (не менее, %) Purity of the substance of the steroidal standard sample of steroidal sapogenin according to the certificate of analysis (at least, %)	Серия (артикул, партия) стандартного образца стероидного сапогенина Series (article, batch) of steroidal sapogenin standard sample	Срок годности до Shelf life till	Производитель стандартного образца стероидного сапогенина Manufacturer of a standardized sample of the steroid sapogenin
Диосгенин Diosgenin	512-04-9	98,5	011118	Июнь 2023 June 2023	ООО «Фитопанacea» (Россия) LLC "Phytopanacea" (Russia)
		98,0	SLCG2768 / 1002901251 / D1634	Октябрь 2025 October 2025	Sigma-Aldrich (Германия) Sigma-Aldrich (Germany)
Гитогенин (Дигин) Gitogenin (Digin)	511-96-6	98,57	83855 / 103121582	Март 2025 March 2025	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)
Гекогенин Hecogenin	467-55-0	97,09	83508 / 81786755	Июнь 2024 June 2024	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)
Неорускогенин Neoruscogenin	17676-33-4	99,5	89253 / 64800353	Октябрь 2023 October 2023	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)
Рускогенин Ruscogenin	472-11-7	98,5	89268 / 62592745	Октябрь 2023 October 2023	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)
Сарсасапогенин Sarsasapogenin	126-19-2	100,0	SLCB1667 / 1002901261 / S8534	Октябрь 2025 October 2025	Sigma-Aldrich (Мексика) Sigma-Aldrich (Mexico)
Тигогенин Tigogenin	77-60-1	93,94	83916 / 112161031	Сентябрь 2025 September 2025	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)
Ямогенин (Неодиосгенин) Yamogenin (Neodiosgenin)	512-06-1	96,53	80634 / 115123645	Февраль 2026 February 2026	PhytoLab GmbH & Co. KG (Германия) PhytoLab GmbH & Co. KG (Germany)

Дериватизацию проводили в устройстве для иммерсии CAMAG® Chromatogram Immersion Device III. Параметры: время – 1 с, скорость – 2,5 см/с. Метод – иммерсия (погружение). Комплексный реагент: кислота серная концентрированная х.ч.: вода очищенная: метанол 99,9%-й х.ч. в соотношении 20 мл: 170 мл: 10 мл соответственно. Приготовление реактива осуществляли на льду. Нагревание пластин в течение 10 мин при температуре 110 °C [16].

Оценку (детекцию) проводили в устройстве CAMAG® TLC Visualizer в двух режимах: 1) до дериватизации (developed plate) – при 254 нм и 366 нм; 2) после дериватизации (derivatized plate) – при 366 нм [17–19].

Денситометрию проводили с помощью устройства CAMAG® TLC Scanner 4 с программным обеспечением winCATS в режиме поглощения при 366 нм с дейтериевой лампой, при 254 нм с ртутной лампой. Длины волн и режим: 1) 254 нм – поглощение/отражение; 2) 366 нм – люминесценция/отражение. Размер щели – 6 × 0,45 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для экономии места расположения пятен-штрихов и увеличения количества одновременно разделенных компонентов растительных экстрактов на одной пластине 20 × 10 см на линию старта трека

№ 1 последовательно наносили растворы стандартных образцов на один трек.

Предварительно все метанольные растворы стандартных образцов разделяли на пластине с целью определения индексов Rf и цвета окраски пятен-штрихов до и после дериватизации. Хроматограмма стандартных образцов стероидных сапогенинов и двух растительных экстрактов диоскореи nipпонской и кавказской приведены на рисунке 7.

Как видно из представленного рисунка 7, схожие индексы Rf в диапазоне 0.42–0.43 и окраску после дериватизации демонстрировали следующие стандартные образцы стероидных сапогенинов: диосгенин, тигогенин, ямогенин. Схожие индексы Rf также в диапазоне 0.08–0.11, но разную окраску после дериватизации получали для следующих стандартных образцов стероидных сапогенинов: неорускогенина, рускогенина, гитогенина. Гекогенин имел значение Rf = 0.29, сарсасапогенин – значение Rf = 0.48. Индексы удерживания характерны для данной системы растворителей для элюирования: толуол 99,5%-й х.ч.: хлороформ 99,5%-й х.ч.:ацетон 99,5%-й х.ч. (2:8:2 по объему соответственно) [16] (таблица 3).

Денситограмма метанольных растворов стандартных образцов стероидных сапогенинов и изопропанол-метанольных экстрактов диоскореи nipпонской и кавказской при длине волны 366 нм представлена на рисунке 8.

Следовательно, разделение сразу всех восьми стандартов из одного пятна-штриха в данной системе растворителей не представляется возможным из-за наложения пятен и слияния окрасок. Было предложено разделять из одного пятна следующие группы метанольных растворов стандартов стеро-

идных сапогенинов: группа № 1 – диосгенин, рускогенин, сарсасапогенин; группа № 2 – гекогенин, неорускогенин, тигогенин; группа № 3 – гитогенин и ямогенин – в данной системе растворителей для элюирования.

Таблица 3. Хроматографические параметры некоторых стандартных образцов стероидных сапогенинов

Table 3. Chromatographic parameters of some standard samples of steroidal sapogenins

Стандартный образец стероидного сапогенина Standard sample of the steroidal sapogenin	Rf	Окраска после дериватизации при длине волны 366 нм Coloration after derivatization at a wavelength of 366 nm
Диосгенин Diosgenin	0.43	Светло-синяя Light blue
Гитогенин Gitogenin	0.11	Темно-синяя Dark blue
Гекогенин Hecogenin	0.29	Синяя Blue
Неорускогенин Neoruscogenin	0.08	Грязно-фиолетовая Dirty purple
Рускогенин Ruscogenin	0.09	Грязно-желтая Dirty yellow
Сарсасапогенин Sarsasapogenin	0.48	Грязно-синяя Dark blue
Тигогенин Tigogenin	0.42	Грязно-синяя Dark blue
Ямогенин Yamogenin	0.43	Темно-синяя Dark blue

Трек № 1 принадлежит группам метанольных растворов стандартных образцов стероидных сапогенинов, наносимых по группам на разные пластины.

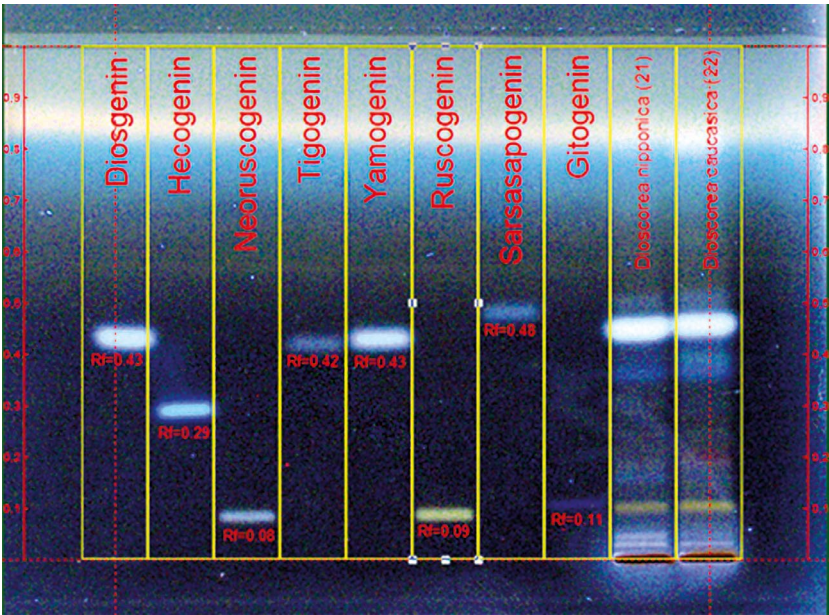


Рисунок 7. Хроматограмма метанольных растворов стандартных образцов стероидных сапогенинов и изопропанол-метанольных экстрактов диоскореи nipпонской и кавказской при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 7. Chromatogram of methanol solutions of standard samples of steroid sapogenins and isopropanol-methanol extracts of Dioscorea nipponica and Dioscorea caucasica at a wavelength of 366 nm after derivatization

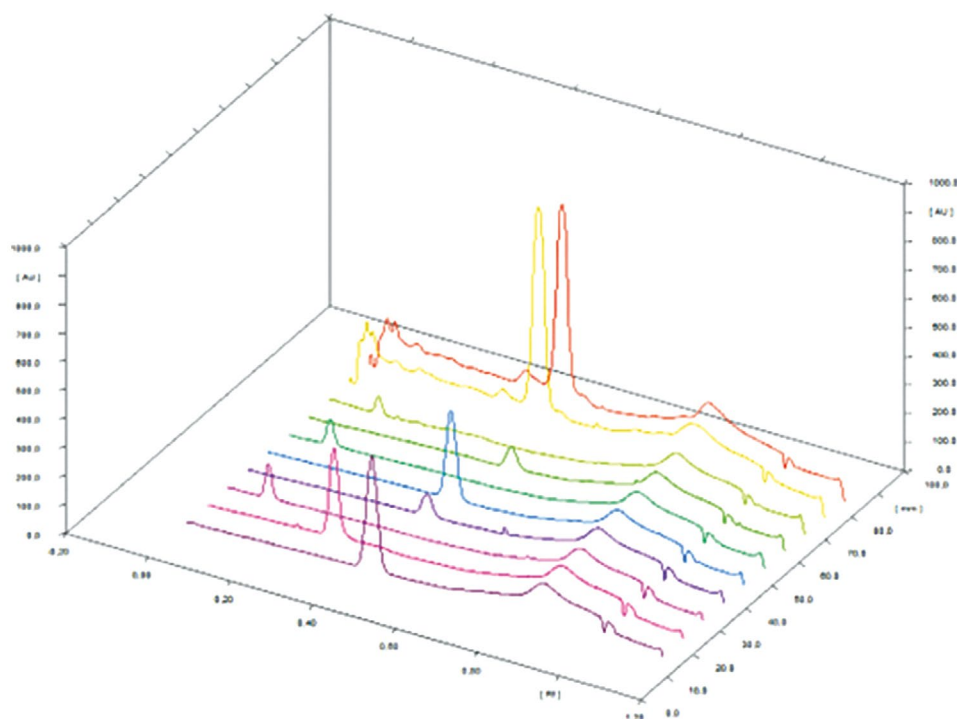


Рисунок 8. Денситограмма метанольных растворов стандартных образцов стероидных сапогенинов и изопропанол-метанольных экстрактов диоскореи ниппонской и кавказской при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 8. Densitogram of methanol solutions of standard samples of steroid sapogenins and isopropanol-methanol extracts of *Dioscorea nipponica* and *Dioscorea caucasica* at a wavelength of 366 nm after derivatization

Треки № 2 и 3 принадлежат представителям семейства диоскорейные: трек № 2 – изопропанол-метанольному экстракту корневищ с корнями диоскореи ниппонской, трек № 3 – корневищ с корнями диоскореи кавказской.

Треки с номерами с 4-го по 10-й принадлежат представителям семейства бобовые: трек № 4 – экстракту корня диоскореи обыкновенной, трек № 5 – травы астрагала перепончатого, трек № 6 – травы донника лекарственного, трек № 7 – травы козлятника лекарственного, трек № 8 – корней копеечника корончатого, трек № 9 – семян пажитника сенного, трек № 10 – плодов софоры японской.

Треки с номерами с 11-го по 15-й принадлежат представителям семейства лютиковые: трек № 11 – экстракту травы клопогона кистевидного, трек № 12 – травы ломоноса шестилепесткового, трек № 13 – корневищ с корнями морозника кавказского, трек № 14 – корневищ с корнями пиона уклоняющегося, трек № 15 – травы прострела раскрытого.

Трек № 16 принадлежит экстракту корневищ с корнями чемерицы Лобеля (сем. мелантьевые), трек № 17 – экстракту трав вероники лекарственной (сем. норичниковые).

Анализируя хроматограммы изопропанол-метанольных экстрактов растительных образцов до дериватизации при длинах волн 254 и 366 нм по трем хроматограммам с тремя отдельными группами стан-

дартов стероидных сапогенинов, мы не обнаружили существенных различий в расположении пятен-штрихов «балластных» соединений и отсутствие пятен-штрихов стандартов стероидных сапогенинов по треку № 1 (рисунки 9 и 10).

После дериватизации с группой стандартов № 1 (диосгенин, рускогенин, сарсасапогенин) по треку № 1 четко обозначились три пятна-штриха соответствующих стандартов: внизу – грязно-желтого цвета стандарт рускогенина, среднее, более яркое пятно-штрих светло-синего цвета – диосгенин и верхнее пятно-штрих грязно-синего цвета – сарсасапогенин (рисунок 11).

Как следует из рисунка 11 и рисунка 12, из представленных хроматограмм и денситограмм изопропанол-метанольных растительных экстрактов, диосгенин, гитогенин и ямогенин (возможно, вместе) содержат только три экстракта на треках № 2, 3, 9, так как три соединения имеют схожие Rf и схожие окраски. Причем на треках 2 и 3 пятна диосгенина наиболее отчетливо выражены и практически одинаковы по интенсивности, что еще раз подтверждает, что корневища с корнями диоскореи ниппонской и кавказской являются источниками получения природного диосгенина [9]. Трек 9 принадлежит экстракту семян пажитника сенного. Из литературных источников известно, что семена пажитника сенного являются также природным источником диосге-

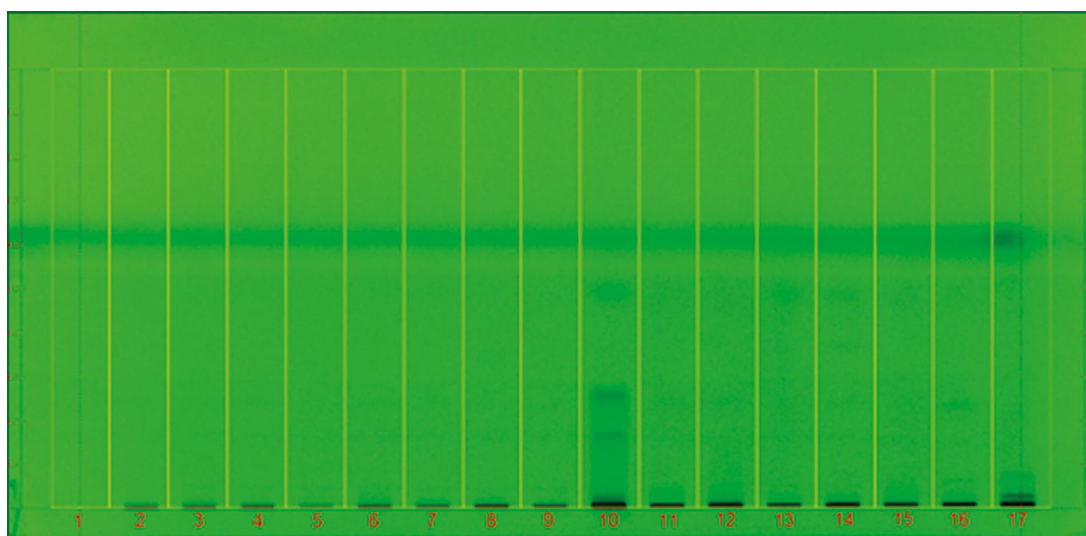


Рисунок 9. Хроматограмма пятен-штрихов изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 254 нм до дериватизации

Figure 9. Chromatogram of spots-strokes of isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 254 nm before derivatization

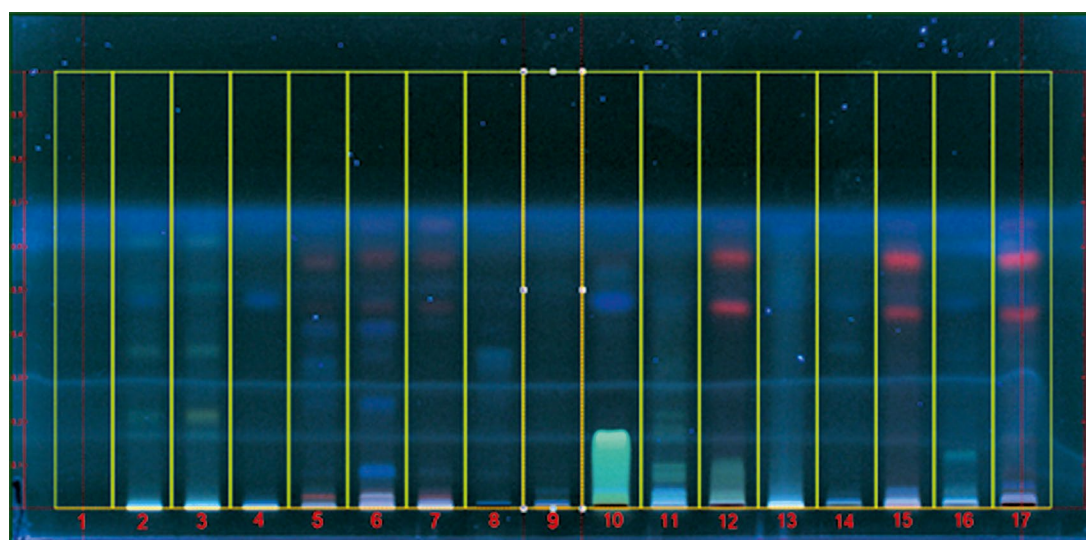


Рисунок 10. Хроматограмма пятен-штрихов изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм до дериватизации

Figure 10. Chromatogram of spots-strokes of isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm before derivatization

нина [9]. На треке 10, принадлежащем экстракту софоры японской, визуализируется бледное грязно-фиолетовое пятно, принадлежащее сарсасапогенину. Пятно рускогенина имеет грязно-желтый цвет. Ни в одном из изучаемых экстрактов не было детектировано данное вещество. На денситограмме, представленной на рисунке 15, присутствует пик на треке № 6 для экстракта травы донника лекарственного, но визуализируемое пятно имеет темно-синий цвет, R_f данного пятна совпадает с индексом R_f рускогенина.

После дериватизации с группой стандартов № 2 (гекогенин, неорускогенин, тигогенин) по треку № 1 были четко определены три пятна-штриха соответ-

ствующих стандартов: внизу – грязно-желтого цвета стандарт неорускогенина, среднее, более яркое пятно-штрих синего цвета – гекогенин и верхнее пятно-штрих грязно-синего цвета – тигогенин (рисунок 13).

Как следует из рисунка 13 и рисунка 14, из представленных хроматограмм и денситограмм изопропанол-метанольных растительных экстрактов, тигогенин, диосгенин и ямогенин (возможно, вместе) содержат экстракты на треках № 9, 15 и 17, принадлежащие семенам пажитника сенного, траве прострела раскрытого и вероники лекарственной соответственно, так как три данных соединения имеют схожие R_f и схожие окраски.

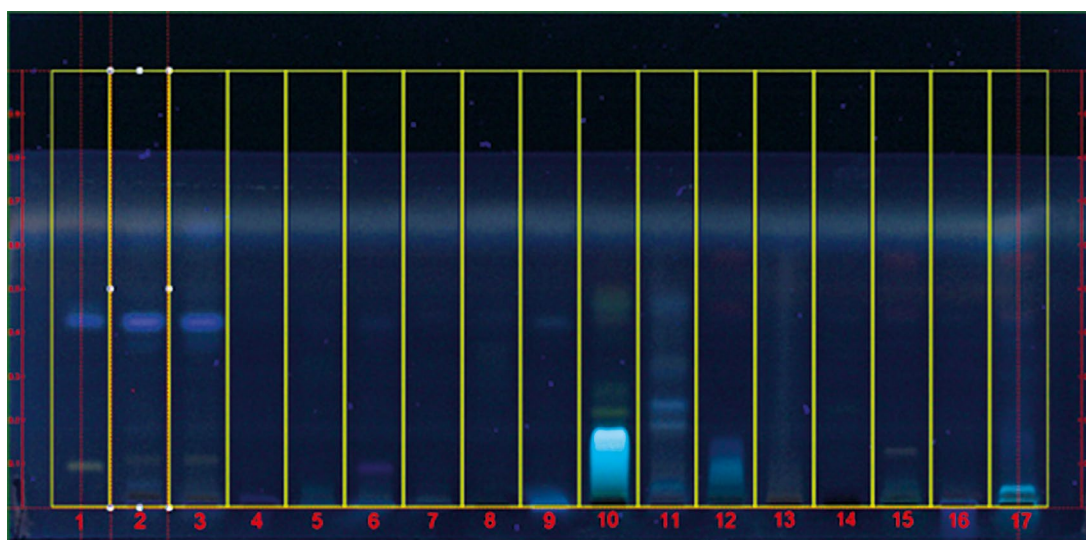


Рисунок 11. Хроматограмма пятен-штрихов метанольных растворов диосгенина, рускогенина и сарсасапогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 11. Chromatogram of streak spots of methanol solutions of diosgenin, ruscogenin and sarsasapogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

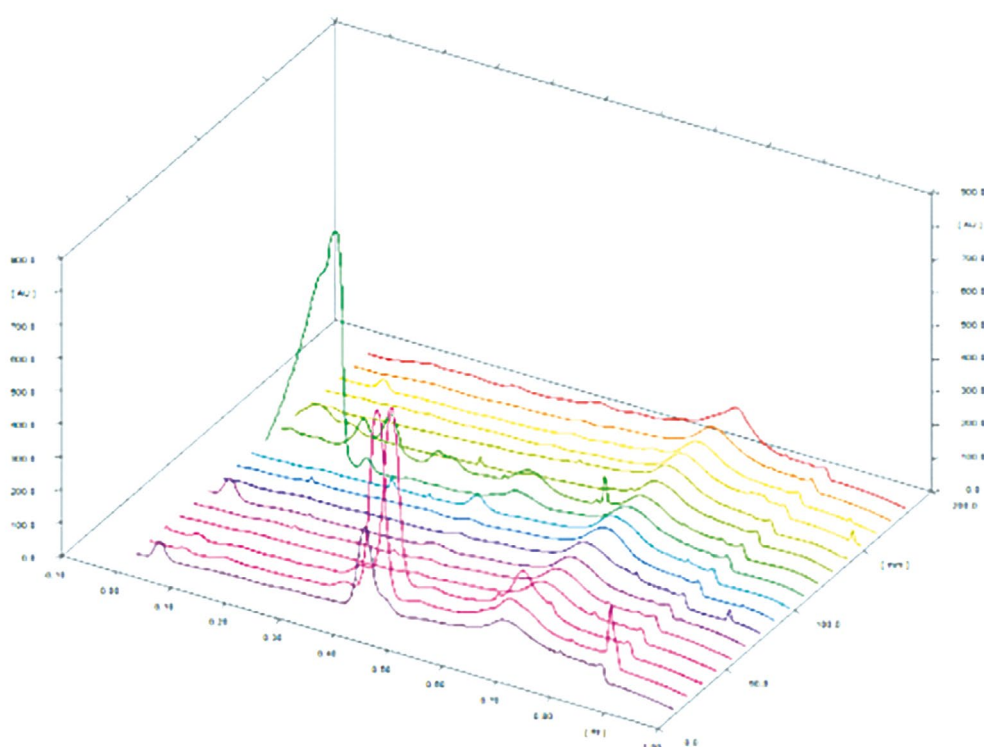


Рисунок 12. Денситограмма метанольных растворов диосгенина, рускогенина и сарсасапогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 12. Densitogram of methanol solutions of diosgenin, ruscogenin and sarsasapogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

Причем пятна-штрихи тигогенина на хроматограмме на треках 15 и 17 слабо заметны. Идентификацию в таких случаях помогает произвести денситограмма (см. рисунок 8). Гекогенин во всех исследуемых экстрактах не детектируется. Пятна-

штрихи неорускогенина на треках экстрактов отсутствуют. На денситограмме (см. рисунок 14) присутствует пик на треке № 6 для экстракта травы донника лекарственного, но визуализируемое пятно имеет темно-синий цвет, Rf данного пятна совпа-

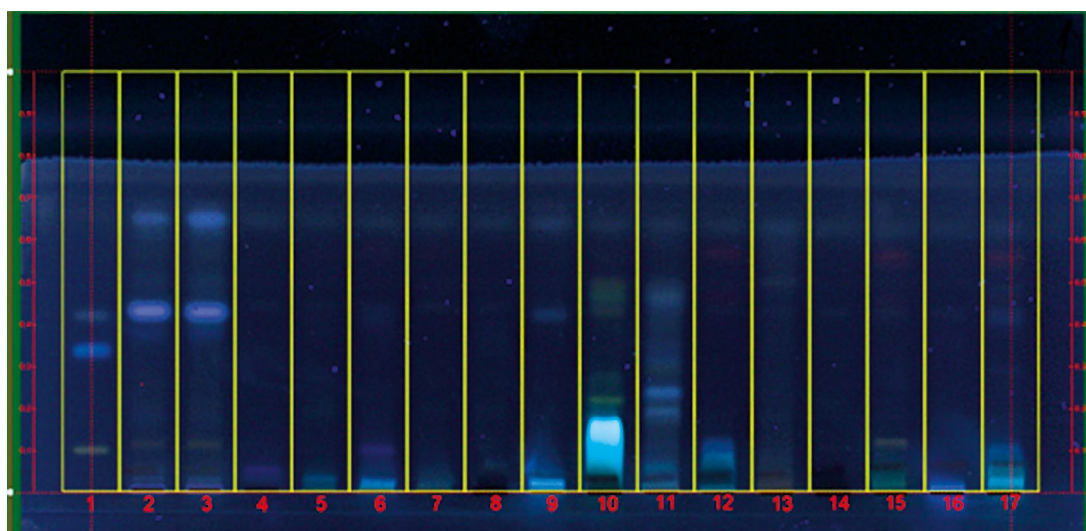


Рисунок 13. Хроматограмма пятен-штрихов метанольных растворов гекогенина, нерускогенина и тигогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 13. Chromatogram of streak spots of methanol solutions of hecogenin, neruscogenin and tigogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

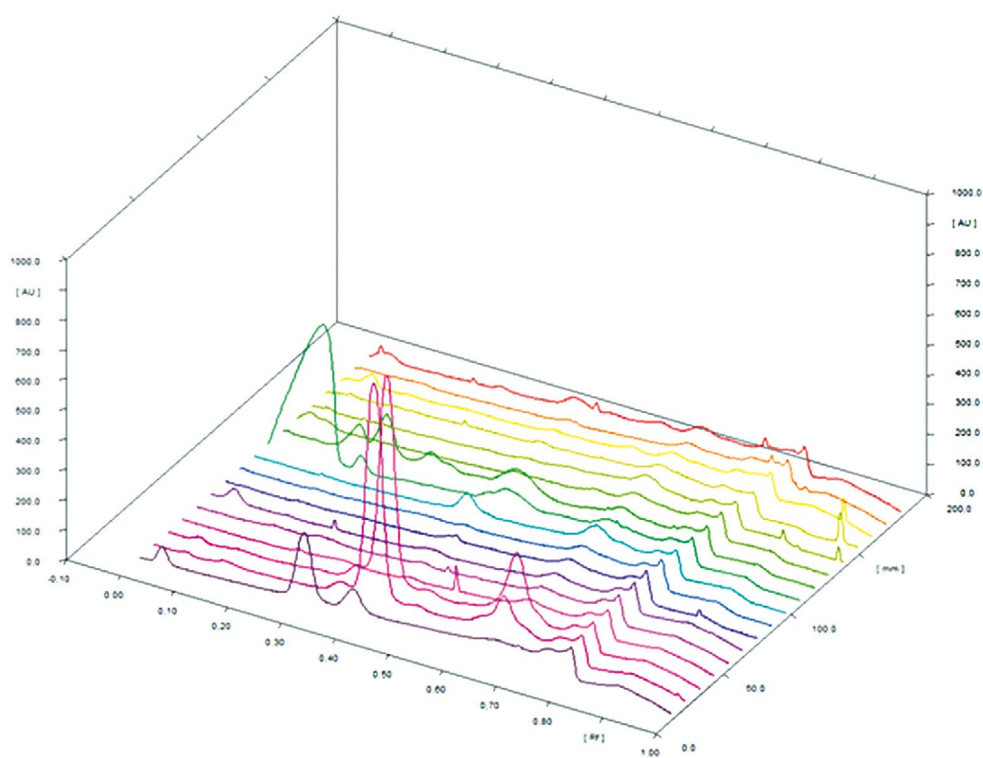


Рисунок 14. Денситограмма метанольных растворов гекогенина, нерускогенина и тигогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 14. Densitogram of methanol solutions of hecogenin, neruscogenin and tigogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

дает с индексом R_f рускогенина. Также отмечено совпадение R_f с нечетким пятном светло-голубого цвета на треке № 10, принадлежащим экстракту плодов софоры японской, но по цвету данное пятно не совпадает с пятном нерускогенина.

После дериватизации с группой стандартов № 3 (гитогенин, ямогенин) по треку № 1 обозначилось два пятна: нижнее – слабо заметное, темно-синего цвета, принадлежащее гитогенину и верхнее – четко выраженное голубое пятно ямогенина (рисунок 15).

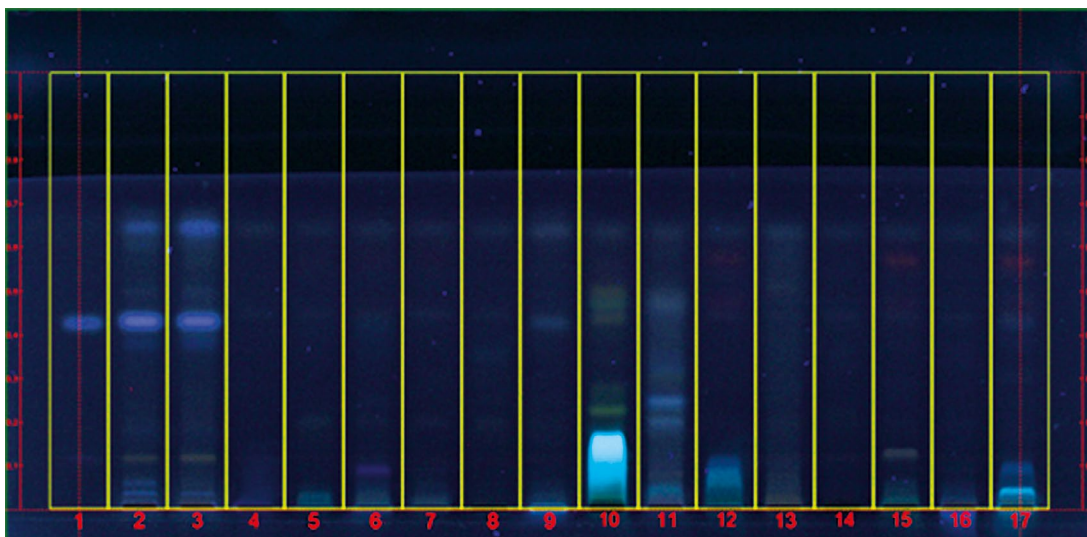


Рисунок 15. Хроматограмма пятен-штрихов метанольных растворов гитогенина, ямогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 15. Chromatogram of streak spots of methanol solutions of gitogenin, yamogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

Пятно ямогенина на треке № 1 (рисунки 15, 16) имеет темно-синий цвет и практически совпадает с индексами удерживания диосгенина, которому соответствуют пятна-штрихи синего цвета на треках № 2 и 3, принадлежащих экстрактам корневищ с корнями диоскореи nipponской и кавказской. Пятно ямоге-

нина слабо заметно и плохо верифицируется на треках № 9 и 17, соответствующих экстрактам семян пажитника сенного и траве вероники лекарственной. Пятно-штрих гитогенина имеет грязно-фиолетовый цвет и не верифицируются на треках растительных экстрактов. Однако пятно грязно-желтого цвета

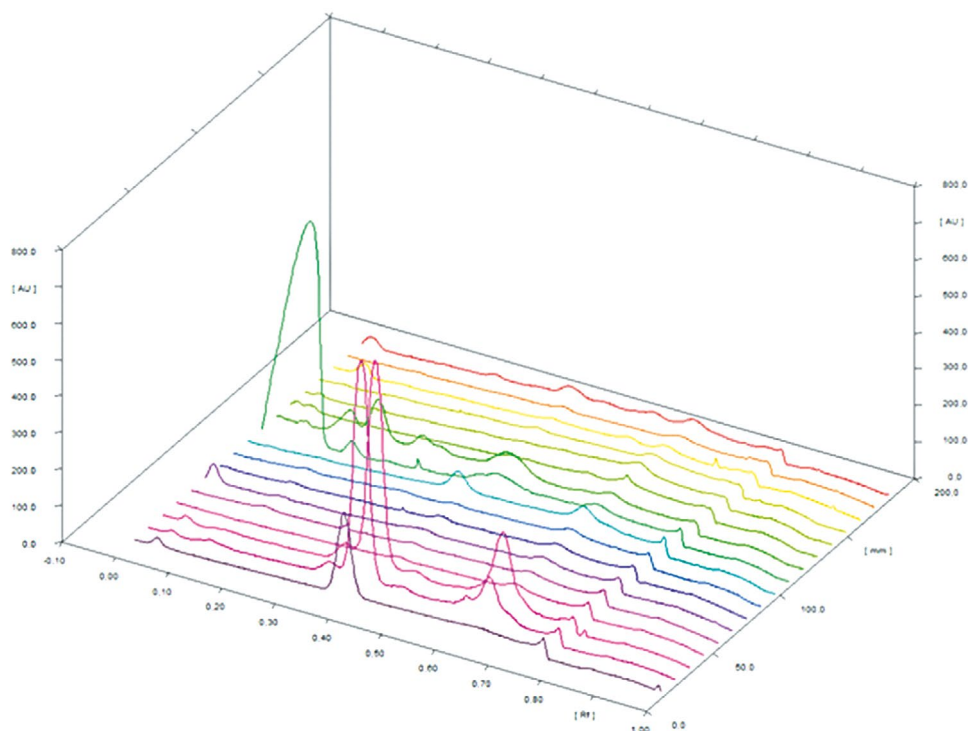


Рисунок 16. Денситограмма метанольных растворов гитогенина и ямогенина и изопропанол-метанольных растительных экстрактов при длине волны 366 нм после дериватизации

Figure 16. Densitogram of methanol solutions of gitogenin and yamogenin and isopropanol-methanol plant extracts at a wavelength of 366 nm after derivatization

с одинаковым с гитогенином Rf обнаружено на треке № 15, соответствующем экстракту травы прострела раскрытого, но имеет иное окрашивание.

Таким образом, были предварительно идентифицированы диосгенин, тигогенин и ямогенин (возможно, при совместном присутствии) в изопропанол-метанольных растительных экстрактах корневищ с корнями диоскореи ниппонской и кавказской и в семенах пажитника сеного. Сарсасапогенин верифицирован в экстрактах плодов софоры японской, тигогенин – в экстрактах семян пажитника сеного, траве прострела раскрытого и траве вероники лекарственной. Ямогенин был обнаружен в экстрактах семян пажитника сеного и траве вероники лекарственной. Не были идентифицированы методом ВЭТСХ в исследуемом ЛРС следующие сапогенины: рускогенин, неорускогенин и гитогенин. В отдельных спорных случаях при совпадении индексов удерживания идентифицировали соединения на основании окраски пятен-штрихов, а при слабо заметных пятнах-штрихах на хроматограмме – на основании денситограмм пятен, а также с помощью детекции другими методами физико-химических исследований.

Данная работа носит поисковый характер с оценкой присутствия тех или иных сапонинов по их сапогенинам в выбранных экстрактах. Будет оптимизирована процедура разделения в рамках ВЭТСХ и выбраны другие способы детектирования для однозначной оценки совместного присутствия изучаемых сапогенинов с примерно одинаковыми оттенками окрашивания после дериватизации и совпадающими индексами удерживания: есть пары стероидных сапогенинов, которые имеют одинаковое удерживание, мы решили сгруппировать их в смеси так, чтобы было разделение внутри группы и последующее сравнение с оригинальными экстрактами давало бы возможность идентифицировать те или иные сапогенины в таких экстрактах.

ЛИТЕРАТУРА

- Liu Z.-H., Yan H., Liu H.-Y. Chemical constituents and their bioactivities of plants of Taccaceae. *Chemistry and Biodiversity*. 2015;12:221–238. DOI: 10.1002/cbdv.201300353.
- Tian L.-W., Zhang Z., Long H.-L., Zhang Y.J. Steroidal saponins from the genus Smilax and their biological activities. *Natural products and bioprospecting*. 2017;7:283–298. DOI: 10.1007/s13659-017-0139-5.
- Agrawal P.K. 25R/25S stereochemistry of spirostane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via chemical shift of geminal protons of ring-F. *Magnetic resonance in chemistry*. 2003;41(11):965–968. DOI: 10.1002/MRC.1278.
- Agrawal P.K. A systematic NMR approach for the determination of the molecular structure of steroidal saponins. *Advances in experimental medicine and biology*. 1996;405:299–315. DOI: 10.1007/978-1-4613-0413-5_26.
- Agrawal P.K. Assigning stereochemistry of the 27-Me group of furostane-type steroidal saponins via NMR chemical shifts. *Steroids*. 2005;70(10):715–724. DOI: 10.1016/j.steroids.2005.04.001.
- Agrawal P.K., Burkholz T., Jacob C. Revisit to 25R/25S stereochemical analysis of spirostane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via ¹H NMR chemical shift data. *Natural product communications*. 2012;7(6):709–711. DOI: 10.1177/1934578X1200700605.
- Diab Y., Ioannou E., Emam A., Vagias C., Roussis V. Desmettianosides A and B, bisdesmosidic furostanol saponins with molluscicidal activity from Yucca desmettiana. *Steroids*. 2012;77(6):686–690. DOI: 10.1016/j.steroids.2012.02.014.
- Michalak O., Krzeczynski P., Cieślak M., Cmoch P., Cybulski M., Królewska-Golińska K., Kaźmierczak-Barańska J., Trzaskowski B., Ostrowska K. Synthesis and anti-tumour, immunomodulating activity of diosgenin and tigogenin conjugates. *Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2020;198:105573. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105573.
- Sun G.C., Jan C.R., Liang W.Z. Exploring the impact of a naturally occurring sapogenin диосгенин on underlying mechanisms of Ca²⁺ movement and cytotoxicity in human prostate cancer cells. *Environmental toxicology*. 2020;35(3):395–403. DOI: 10.1002/tox.22876.
- Васильева И.С., Пасешниченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность. *Успехи биологической химии*. 2000;40:153–204.
- Laila O., Murtaza I., Muzamil S., Ali S.I., Ali S.A., Paray B.A., Gulnaz A., Vladulescu C., Mansoor S. Enhancement of nutraceutical and anti-diabetic potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Sprouts with natural elicitors. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(1):1–13. DOI: 10.1016/j.jsps.2022.11.00.
- Суханов А.Е., Буюклинская О.В., Коптяева Р.Г. Стероидные соединения растительного происхождения: наукометрическое исследование данных научно-практической литературы. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2017;13(1):14–21.
- Стеколыщикова А.А. Новые подходы к идентификации и определению сапонинов растений методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Дисс. ... канд. хим. наук. М.; 2018.
- Stavrianidi A.N., Stekolshchikova E.A., Turova P.N., Rodin I.A., Shpigun O.A. Quantitative analysis of a multicomponent system for liquid chromatography–mass spectrometry determination of diosgenin, dioscin and protodioscin in plant extracts of *Tribulus terrestris*, 2017. *Moscow university chemistry bulletin*. 2017;72:144–153. DOI: 10.3103/S0027131417030063.
- Sarvin B., Stekolshchikova E.A., Rodin I.A., Stavrianidi A.N., Shpigun O.A. Optimization and comparison of different techniques for complete extraction of saponins from *T. terrestris*. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*. 2018;8:75–82. DOI: 10.1016/j.jarmap.2017.12.002.
- Jork H., Werner F., Fischer W., Wimmer H. Thin-layer chromatography. Reagents and detection methods. Volume I. Physical and chemical detection methods: fundamentals, reagents I Thin layer chromatography. Weinheir: Wiley-VCH; 1990. 464 p. DOI: 10.1016/s0003-2670(00)83962-8.
- Sastre F., Ferreira F., Pedreschi F. TLC fingerprint of phenolics and saponins in commercial extracts of *Yucca schidigera* Roezl. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2016;39(15):698–701. DOI: 10.1080/10826076.2016.1234393.
- Singh R., Kharat S.N., Mendhulkar V. D. Chromatographic analysis for «Diosgenin» content in *Abutilon indicum* L. sweet. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2016;8(2):178–182.
- Suja S., Sivakala S. Phytochemical, purification and spectral analysis of compounds from root tuber extract of *Asparagus racemosus* (Willd). *Materials Today: Proceedings*. 2021;41(3):618–621. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.05.262.

REFERENCES

- Liu Z.-H., Yan H., Liu H.-Y. Chemical constituents and their bioactivities of plants of Taccaceae. *Chemistry and Biodiversity*. 2015;12:221–238. DOI: 10.1002/cbdv.201300353.

2. Tian L.-W., Zhang Z., Long H.-L., Zhang Y.J. Steroidal saponins from the genus *Smilax* and their biological activities. *Natural products and bioprospecting*. 2017;7:283–298. DOI: 10.1007/s13659-017-0139-5.
3. Agrawal P.K. 25R/25S stereochemistry of spirostane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via chemical shift of geminal protons of ring-F. *Magnetic resonance in chemistry*. 2003;41(11):965–968. DOI: 10.1002/MRC.1278.
4. Agrawal P.K. A systematic NMR approach for the determination of the molecular structure of steroidal saponins. *Advances in experimental medicine and biology*. 1996;405:299–315. DOI: 10.1007/978-1-4613-0413-5_26.
5. Agrawal P.K. Assigning stereodiversity of the 27-Me group of furostane-type steroidal saponins via NMR chemical shifts. *Steroids*. 2005;70(10):715–724. DOI: 10.1016/j.steroids.2005.04.001.
6. Agrawal P.K., Burkholz T., Jacob C. Revisit to 25R/25S stereochemical analysis of spirostane-type steroidal sapogenins and steroidal saponins via ¹H NMR chemical shift data. *Natural product communications*. 2012;7(6):709–711. DOI: 10.1177/1934578X1200700605.
7. Diab Y., Ioannou E., Emam A., Vagias C., Roussis V. Desmettianosides A and B, bisdesmosidic furostanol saponins with molluscicidal activity from *Yucca desmettiana*. *Steroids*. 2012;77(6):686–690. DOI: 10.1016/j.steroids.2012.02.014.
8. Michalak O., Krzeczynski P., Cieślak M., Cmoch P., Cybulski M., Królewska-Golińska K., Kaźmierczak-Barańska J., Trzaskowski B., Ostrowska K. Synthesis and anti-tumour, immunomodulating activity of diosgenin and tigogenin conjugates. *Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2020;198:105573. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.105573.
9. Sun G.C., Jan C.R., Liang W.Z. Exploring the impact of a naturally occurring sapogenin диосгенин on underlying mechanisms of Ca²⁺ movement and cytotoxicity in human prostate cancer cells. *Environmental toxicology*. 2020;35(3):395–403. DOI: 10.1002/tox.22876.
10. Vasilyeva I.S., Paseshnichenko V.A. Steroid glycosides of plants and dioscorea cell cultures, their metabolism and biological activity. *Advances in biological chemistry*. 2000;40:153–204. (In Russ.)
11. Laila O., Murtaza I., Muzamil S., Ali S.I., Ali S.A., Paray B.A., Gulnaz A., Vladulescu C., Mansoor S. Enhancement of nutraceutical and anti-diabetic potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Sprouts with natural elicitors. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(1):1–13. DOI: 10.1016/j.jsps.2022.11.00.
12. Sukhanov A.E., Buyuklinskaya O.V., Koptyaeva R.G. Steroid compounds of plant origin: a scientometric study of the data of scientific and practical literature. *Saratov Scientific and Medical Journal*. 2017;13(1):14–21. (In Russ.)
13. Stekolshchikova A.A. Novel approaches to identifying and defining plant saponins by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. [Dissertation.] Moscow; 2018. (In Russ.)
14. Stavrianidi A.N., Stekolshchikova E.A., Turova P.N., Rodin I.A., Shpigun O.A. Quantitative analysis of a multicomponent system for liquid chromatography-mass spectrometry determination of diosgenin, dioscin and protodioscin in plant extracts of *Tribulus terrestris*, 2017. *Moscow university chemistry bulletin*. 2017;72:144–153. DOI: 10.3103/S0027131417030063.
15. Sarvin B., Stekolshchikova E.A., Rodin I.A., Stavrianidi A.N., Shpigun O.A. Optimization and comparison of different techniques for complete extraction of saponins from *T. terrestris*. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*. 2018;8:75–82. DOI: 10.1016/j.jarmap.2017.12.002.
16. Jork H., Werner F., Fischer W., Wimmer H. Thin-layer chromatography. Reagents and detection methods. Volume I. Physical and chemical detection methods: fundamentals, reagents I Thin layer chromatography. Weinheir: Wiley-VCH; 1990. 464 p. DOI: 10.1016/s0003-2670(00)83962-8.
17. Sastre F., Ferreira F., Pedreschi F. TLC fingerprint of phenolics and saponins in commercial extracts of *Yucca schidigera* Roezl. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2016;39(15):698–701. DOI: 10.1080/10826076.2016.1234393.
18. Singh R., Kharat S.N., Mendhulkar V. D. Chromatographic analysis for «Diosgenin» content in *Abutilon indicum* L. sweet. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2016;8(2):178–182.
19. Suja S., Sivakala S. Phytochemical, purification and spectral analysis of compounds from root tuber extract of *Asparagus racemosus* (Willd). *Materials Today: Proceedings*. 2021;41(3):618–621. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.05.262.