

## ИЗУЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СУММЫ СТЕРОИДНЫХ САПОНИНОВ В СЕМЕНАХ ПАЖИТНИКА ГРЕЧЕСКОГО (*TRIGONELLA FOENUM GRAECUM* L.)

Е.Д. Агабалаева, Л.В. Гончарова, Е.В. Спиридович, В.Н. Решетников

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

### Введение

Большую роль в развитии фармацевтической промышленности в Беларуси играет разработка препаратов на основе лекарственных растений. Перед правительством и учеными нашей страны поставлена задача в ближайшие годы существенно сократить импорт фармпродукции, в том числе лекарственного сырья и готовых лекарственных форм растительного происхождения. С целью расширения сырьевой базы фитопрепаратов в Центральном ботаническом саду проводятся работы по интродукции, расширению номенклатуры выращиваемых в условиях Беларуси лекарственных растений, а также изучению их биохимического состава.

Сапонины – сложные органические соединения гликозидной природы, обладающие способностью при растворении в воде образовывать стойкую пену. Сапонины являются гликозидами двух видов, которые различаются строением неуглеводной части молекулы. Первая группа включает сапонины, которые являются гликозидами тритерпеноидов (тритерпеновые гликозиды), вторая – гликозидами стероидов ряда спиростана и фуростана (стероидные гликозиды) [1].

Особый интерес представляет изучение стероидных гликозидов как соединений, обладающих высокой биологической активностью и экологической безопасностью. В последнее время многими исследователями была обнаружена способность данных соединений тормозить рост некоторых форм злокачественных образований, снижать уровень холестерина в крови, стимулировать овуляторные процессы, увеличение лактации, а также выявлены антидиабетическая, антиоксидантная, антигрибная, антимикробная антивирусная активности. Стероидные гликозиды являются эффективными при лечении ревматизма, гемолитической анемии, бронхиальной астмы, гемодиатеза, язвы желудка [2–5].

Молекулы гликозидов состоят из углеводной части и агликона – сапогенина, который служит исходным сырьем для синтеза стероидных гормонов. Особое значение среди сапогенинов в качестве источника получения гормональных препаратов имеет диосгенин (рисунок 1), который является одним из исходных продуктов синтеза кортизона, прогестерона и др [6].

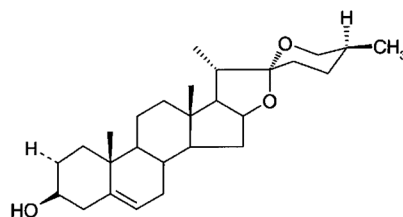


Рисунок 1 – Структурная формула диосгенина

Пажитник греческий (*Trigonella foenum graecum* L.) – однолетнее растение семейства *Fabaceae* – привлек наше внимание как возможно новый для Беларуси источник стероидных сапонинов, а в частности, диосгенина (до 1% в сухой массе семян). В настоящее время отечественная фармацевтическая промышленность испытывает дефицит в лекарственном растительном сырье, содержащем стероидные сапонины. В нашей стране для синтеза гормонов используют солосодин, получаемый из культивируемого паслена дольчатого *Solanum laciniatum*, но производство данного соединения не рентабельно, поэтому недостаток исходного сырья восполняется за счет импортируемого диосгенина. Основными

поставщиками сырья для производства диосгенина являются Мексика, Индия, Китай, которые для этих целей используют разные виды рода *Dioscorea* и в меньшей степени различные виды родов *Agava*, *Yucca* и др [1].

Пажитник греческий был успешно интродуцирован в ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», где в культуре дает устойчивые урожаи семян. На сегодняшний день в коллекции пряно-ароматических и лекарственных растений ботанического сада содержатся два сорта пажитника греческого (Ovary Gold, Ovary 4) и линия PSZ.G.SZ, предоставленные профессором кафедры лекарственных растений факультета сельскохозяйственных и пищевых продуктов Западно-венгерского Университета Шандором Макаи.

Цель работы – показать потенциал использования пажитника греческого в качестве источника биологически активных веществ путем сравнительного исследования содержания стероидных сапонинов в семенах растений, выращенных в условиях Беларуси и Венгрии.

#### Методы исследования

В качестве объектов исследования служили семена пажитника греческого двух сортов (Ovary Gold, Ovary 4) и линии PSZ.G.SZ, привезенного из Венгерской Республики и выращенного на опытных участках отдела биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси».

Определение стероидных сапонинов в семенах пажитника проводили спектрофотометрическим методом, предложенным в ФС «Методика количественного определения сапонинов в корневище с корнями диоскареи nipпонской (*Rhizoma cum radicibus Dioscoreae nipponicae*)», с некоторыми модификациями применительно к объектам исследования [7]. Метод основан на способности фураностаноловых гликозидов образовывать с реактивом Эрлиха (1%-ный *n*-диметиламинобензальдегид в 4 н спиртовом растворе соляной кислоты) соединения, окрашенные в розовый цвет.

1 г (точная навеска) измельченного сырья (размеры частиц не превышают 10 мм) помещали в плоскодонную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70%-ного этилового спирта. Колбу с содержимым взвешивали, присоединяли к ней обратный холодильник и кипятили на водяной бане в течение 1 часа с момента закипания растворителя, периодически перемешивая. По окончании указанного времени экстракт охлаждали до комнатной температуры, потерю в массе восполняли 70%-ным этиловым спиртом, перемешивали и фильтровали через бумажный фильтр 30–40 мл раствора. 5 мл фильтрата переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем раствора доводили до метки 70%-ным этиловым спиртом и тщательно перемешивали (раствор А).

5 мл раствора А переносили в стеклянную пробирку с нормальным шлифом и сюда же прибавляли 5 мл 1%-ного *n*-диметиламинобензальдегида в 4 н спиртовом растворе соляной кислоты. Пробирку закрывали стеклянной пробкой, раствор перемешивали и нагревали в течение 2 ч в термостате при температуре  $58 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Раствор охлаждали водопроводной водой до комнатной температуры и определяли его оптическую плотность на спектрофотометре Agilent 8453 UV-visible (Германия) при длине волны 518 нм. В качестве раствора сравнения использовали смесь 5 мл раствора А и 5 мл 4 н спиртового раствора соляной кислоты, который также выдерживали в термостате при  $58 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Концентрацию фураностаноловых гликозидов находили по графику, построенному по кобальта хлориду, который использовали в качестве заменителя раствора сравнения.

Определение суммы сапонинов (X) в пересчете на сухое сырье (в %) рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 0,0101 \cdot V \cdot K_p \cdot 100\%}{m \cdot (100 - W)},$$

где *a* – концентрация хлорида кобальта, найденная по калибровочному графику, г/мл; 0,0101 – коэффициент пересчета концентрацию хлорида кобальта на концентрацию

гликозидов; V – исходный объем извлечения, мл; Kp – коэффициент разбавления; m – масса навески сырья, г; W – влажность сырья, %.

Для всех образцов исходный объем извлечения составлял 50 мл, Kp – 5, влажность сырья приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Влажность семян пажитника греческого, %

Образцы	Страна произрастания	Урожай, год	Влажность семян пажитника греческого (W), %
Ovary Gold	Венгрия	2008	9,6
Ovary 4	Венгрия	2008	9,8
PSZ.G.SZ	Венгрия	2008	9,4
Ovary Gold	Беларусь	2009	9,6
Ovary 4	Беларусь	2009	9,7
PSZ.G.SZ	Беларусь	2009	9,5

Все анализы проводились в четырехкратной повторности, полученные результаты обрабатывались с использованием компьютерной программы Statistica 6.0, данные считали достоверными при  $P < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований было определено содержание суммы стероидных сапонинов в семенах пажитника греческого. Разное содержание стероидных сапонинов в семенах пажитника, выращенных в условиях Беларуси и Венгрии свидетельствует о влиянии условий произрастания на их накопление. По полученным нами данным, сумма стероидных сапонинов в семенах пажитника греческого составляет от 2,20 до 3,38% от сухой массы семян. Следует отметить, что семена пажитника греческого, выращенные на опытных участках Центрального ботанического сада содержат большее количество стероидных сапонинов (3,34–3,38%) (рисунок 2), чем семена, привезенные из Венгерской Республики (2,20–2,84%) (рисунок 3).

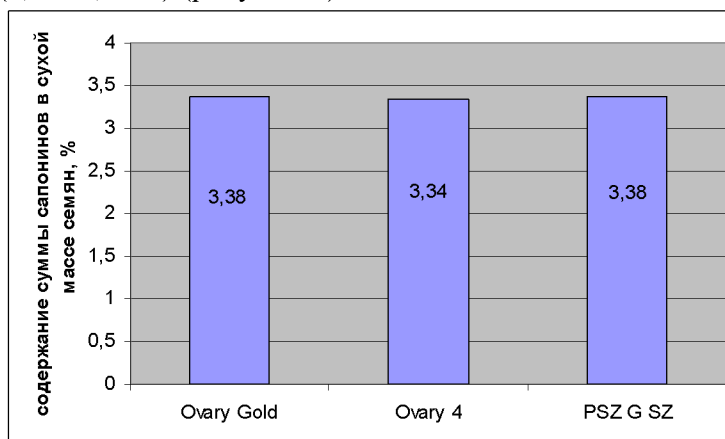


Рисунок 2 – Содержание стероидных сапонинов в семенах пажитника греческого, выращенных в ЦБС НАН Беларуси, %

В семенах пажитника греческого двух сортов (Ovary Gold, Ovary 4) и линии PSZ.G.SZ, выращенных в ЦБС НАН Беларуси, содержание стероидных сапонинов примерно одинаковое (3,34–3,38%), а в семенах пажитника греческого, привезенных из Венгерской Республики, содержание стероидных сапонинов уменьшается в ряду Ovary Gold (2,84%), Ovary 4 (2,76%), PSZ.G.SZ (2,20%).

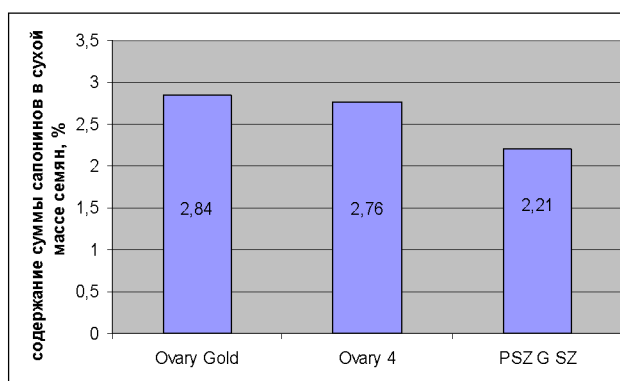


Рисунок 3 – Содержание стероидных сапонинов в семенах пажитника греческого, привезенных из Венгерской Республики, %

### Выводы

Таким образом, проведенные исследования наглядно демонстрируют, что семена пажитника греческого содержат стероидные сапонины (до 3,38% от сухой массы семян) и растения, выращенные как в условиях Венгрии, так и Беларуси, могут быть использованы в качестве источника биологически активных веществ при создании новых фитопрепаратов и биокорректоров. Результаты работы будут использованы для создания баз данных по биохимическому составу растений, культивируемых и произрастающих на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

### Список литературы

1. Васильева, И.С. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскареи, их метаболизм и биологическая активность / И.С. Васильева, В.А. Пасешниченко // Успехи биологической химии. – 2000. – Т.4. – С. 153–204.
2. Srinivasan, K. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effect / K. Srinivasan // Food reviews international. – 2006. – Vol. 22, №2. – P. 203–224.
3. Kharya, M.D. Fertility regulation potential of Fenugreek seeds (MAPS-P-408) / M.D. Kharya // International Pharmaceutical Federation World Congress. – 2002. – Vol. 62. – P. 133.
4. Devasena, T. Fenugreek affects the activity of  $\beta$ -glucuronidase and mucinase in the colon / T. Devasena, V.P. Menon // Phytotherapy Research. – 2003. – Vol. 17. – P. 1088–1091.
5. Amalraj, A. Antimicrobial activity of fenugreek seeds and leaves / A. Amalraj [et al.] // Indian Journal of Natural Products. – 2005. – Vol. 21, №2. – P. 35–36.
6. Benichou, A. Steroid-saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and surface properties / A. Benichou, A. Aserin, N. Garti // Journal of Dispersion Science and Technology. – 1999. – Vol. 20, № 1–2. – P. 581–605.
7. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фармацевтических вузов / Е.Я. Ладыгина [и др.]; под общ. ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высшая школа, 1983. – С. 52–53.

### STUDYING OF THE QUANTITATIVE MAINTENANCE OF THE SUM OF STEROID SAPONINS IN THE SEEDS OF FENUGREEK (*TRIGONELLA FOENUM GRAECUM* L.)

E.D. Agabalaeva, L.V. Goncharova, E.V. Spirydovich, V.N. Reshetnikov

*The Central Botanical garden of the NAS of Belarus, Minsk, Belarus*

Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) is a perspective medicinal and aromatic plant of family *Fabaceae*. The seeds of fenugreek is a source of the steroidal saponins, which can be used as starting materials for the production of steroid hormones, such as progesterone, cortisone. According to the result of investigation the sum of steroid saponins in the seeds of fenugreek constitutes 2,20–3,38% on dry weight. The result of works will be used for establishing database biochemical composition of plants at the Central Botanical garden of NAS of Belarus.