

УДК 615.332

Сравнительное исследование антирадикальной активности экстрактов семян *Trigonella foenum-graecum* L. венгерских, индийских и армянских образцов

**Л. А. Меликян¹, Р. А. Иванова², А.П. Даскалюк²,
Р.П. Алексанян¹, А.С. Оганесян¹, Э.С. Габриелян¹,
П. Макаи³, Ш. Макаи³**

¹Экспертно-аналитическая лаборатория Научного центра по экспертизе лекарств и медицинских технологий, Республика Армения

²Центр передовых биологических технологий Института генетики и физиологии растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова

³Западно - Венгерский Университет, кафедра лекарственных и ароматических растений, Мошонмадаровар, Венгрия 0001, Ереван, ул. Московян, 15

Ключевые слова: *Trigonella foenum-graecum* L., антиоксидантная активность, полифенольные соединения, антирадикальная активность

Trigonella foenum-graecum L. (Fenugreek, пажитник, оромчаман) — представитель вида *Leguminosae*, одно из самых известных лекарственных растений [6-10]. Как официальное лекарственное растение оно включено в ряд европейских и других фармакопей. Официально признано, что экстракты семян *Trigonella foenum-graecum* L. обладают антиоксидантным, противовоспалительным, антихолестериновым, антианемическим и другими терапевтическими эффектами. [11-13]. Во многих странах экстракты, настои и чай, изготовленные из семян *Trigonella foenum-graecum* L., используются как антидиабетическое средство. Препараты, изготовленные из *Trigonella foenum-graecum* L., с успехом используются для поддержки при лечении диабета II типа [15,16].

В настоящее время разработаны простые и в то же время достаточно точные методы предварительного скрининга биологически активных соединений, с целью выявления их антиоксидантного действия [2-4,10,14]. Одним из самых эффективных методов является изучение антиоксидантной активности *in vitro*, основанное на исследовании

способности активных компонентов лекарственных растений улавливать свободные радикалы.

Хорошо известно, что терапевтические эффекты и вкусовые качества растений зависят в первую очередь от их химического состава, который формируется в зависимости от состава почвы и состояния окружающей среды. В частности, ранее нами было показано, что по своему макро- и микроэлементному составу армянские и венгерские значительно отличаются [5].

В связи с этим несомненный интерес представляет сравнительное исследование антиоксидантной активности семян [6-9] *Trigonella foenum-graecum* L., выращенных в Венгрии, Индии и культивируемых в Араратской долине Армении.

Цель настоящей работы – сравнительное изучение антирадикальной активности (АРА) спирто-водных экстрактов семян *Trigonella foenum-graecum* L., произрастающих в Армении, Индии и Венгрии.

Материал и методы

В работе были использованы следующие спирто-водные экстракты семян *Trigonella foenum-graecum* L.: армянские образцы урожая 2006 г., выращенного в селе Норапат Армавирского марза; венгерский – образец Х32, культивируемый на опытном поле Западного Университета Венгрии, и образец, выращенный в Индии на опытном поле Национального института фармации.

Получение водно-спиртовых экстрактов осуществляли путем добавления к порошку пажитника 70% спирта в соотношении 1/5 (сырье/спирт) и экстракции при комнатной температуре при постоянном перемешивании в течение 22-24 ч. Затем смесь центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин, надосадочную жидкость фильтровали через бумажный фильтр. Были приготовлены три серии экстрактов, которые использовали для исследований.

Определение антирадикальной активности проводили *in vitro* потенциометрическим методом [2-4, 14]. В качестве генератора реакционноспособных пероксид радикалов использовали 2,2'-азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид. АРА экстрактов выражали в эквиваленте галловой кислоты (GAE). Эквивалент галловой кислоты – это концентрация галловой кислоты в мМ, при которой она проявляет равный с экстрактом эффект связывания свободных радикалов, отнесенная к грамму сухого остатка экстракта.

Определение сухого остатка экстракта проводили по методике, описанной в Европейской Фармакопее [1].

Определение суммарного содержания полифенольных соединений. 1 мл экстракта разбавляли дистиллированной водой до 50 мл.

Затем в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2 мл разбавленного экстракта, добавляли 10 мл дистиллированной воды, 1 мл реактива Фолина-Чокальтеу и доводили объем до метки насыщенным раствором углекислого натрия. Перемешивали до получения однородной смеси и выдерживали 30 мин. Абсорбцию определяли при 760 нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 1 см по отношению к раствору, приготовленному с дистиллированной водой вместо исследуемого экстракта. В качестве полифенольного стандарта использовали галловую кислоту.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований представлены в таблице. Согласно полученным данным, наименьшим выходом экстрагируемых веществ из сырья характеризовались все серии экстрактов, полученных из *Trigonella foenum-graecum* L., произрастающего в Армении (от 10,28 до 11,81%). При экстрагировании образцов из Индии и Венгрии выход экстрагируемых веществ был немного выше (10,38 – 12,76%). При этом общее количество полифенольных соединений в полученных экстрактах варьирует в относительно узком диапазоне от $0,710 \pm 0,038$ до $0,794 \pm 0,022$ мг/мл, что составляет примерно 2,4 – 3,1% от сухого остатка экстрактов (табл.). Необходимо отметить, что в среднем в экстрактах пажитника из Армении содержится наибольшее количество полифенольных соединений. Учитывая, что полифенолы предопределяют АРА экстрактов, не удивительно, что экстракты из армянского образца обладают и наибольшей активностью ($30,36 \pm 2,24$ – $50,72 \pm 8,25$ мМ GAE/г). Однако при сравнении показателей АРА экстрактов различного происхождения необходимо указать, что различие результатов не является достоверным. Области варьирования результатов перекрываются (рис.).

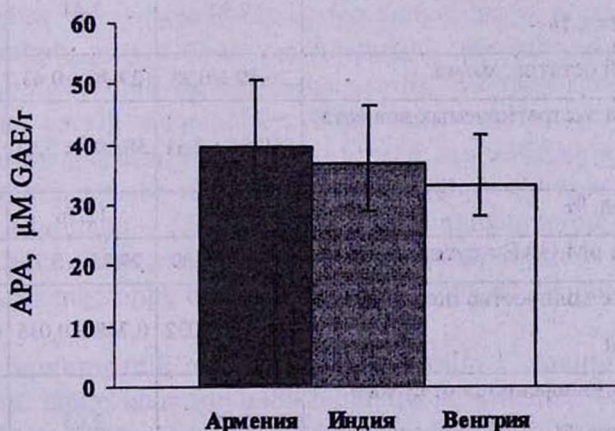


Рисунок. Антирадикальная активность экстрактов пажитника различного происхождения

Таблица

Количественные характеристики экстрактов семян *Trigonella foenum-graecum* L. и их антирадикальная активность (АРА)

Образец	Показатели экстракта	Серии экстрактов		
		1	2	3
Армения	сухой остаток, мг/мл	25,69 ± 0,14	29,53 ± 0,15	28,45 ± 0,15
	масса экстрагируемых веществ, мг	308,25 ± 1,65	354,30 ± 1,80	341,40 ± 1,77
	выход, %	10,28	11,81	11,38
	АРА, μM GAE/г сухого остатка	37,81 ± 0,69	30,36 ± 2,24	50,72 ± 8,25
	общее количество полифенолов, мг/мл	0,788 ± 0,025	0,736 ± 0,027	0,794 ± 0,022
	доля полифенолов от сухого остатка, %	3,06	2,48	2,79
Индия	сухой остаток, мг/мл	24,91 ± 0,22	30,86 ± 0,34	29,03 ± 0,25
	масса экстрагируемых веществ, мг	311,41 ± 2,77	370,35 ± 4,02	348,3 ± 3,17
	выход, %	10,38	12,35	11,61
	АРА, μM GAE/г сухого остатка	35,16 ± 0,85	29,05 ± 0,12	46,62 ± 1,50
	общее количество полифенолов, мг/мл	0,727 ± 0,025	0,746 ± 0,019	0,710 ± 0,038
	доля полифенолов от сухого остатка, %	2,92	2,41	2,46
Венгрия	сухой остаток, мг/мл	26,89 ± 0,28	29,46 ± 0,43	28,76 ± 0,17
	масса экстрагируемых веществ, мг	349,54 ± 3,61	383,07 ± 5,53	373,91 ± 2,21
	выход, %	11,65	12,76	12,46
	АРА, μM GAE/г сухого остатка	28,32 ± 0,09	29,35 ± 5,71	41,81 ± 6,33
	общее количество полифенолов, мг/мл	0,753 ± 0,032	0,748 ± 0,035	0,752 ± 0,012
	доля полифенолов от сухого остатка, %	2,80	2,65	2,61

Для сравнения способности экстрактов пажитника связывать свободные радикалы *in vitro* с этой способностью других растительных экстрактов приведем некоторые данные. Так, водно-спиртовые экстракты плодов черемухи, черноплодной рябины и шиповника, изученные аналогичным методом, имели активность равную 30,38; 42,99 и 51,18 мМGAЕ/г сухого остатка экстракта соответственно [10].

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что экстракты семян *Trigonella foenum-graecum* L. проявляют АРА в тех же пределах, что и экстракты плодов известных лекарственных растений.

Экстракты семян *Trigonella foenum-graecum* L. проявляют АРА в тех же пределах, что и экстракты известных лекарственных растений.

Статистически достоверного различия в количественных показателях и АРА изученных экстрактов семян *Trigonella foenum-graecum* L., произрастающего в Армении, Индии и Венгрии, не установлено.

Поступила 20.12.07

Հայկական, հունգարական և հնդկական *Trigonella foenum-graecum* L.-ի սերմերի հանուկների հակառադիկալային ակտիվության համեմատական ուսումնասիրություն

Լ.Ա. Մելիքյան, Ռ.Ա. Իվանովա, Ա.Պ. Դասկալյուկ,
Հ.Պ. Ալեքսանյան, Ա.Ս. Հովհաննիսյան, Է.Ս. Գաբրիելյան,
Պ.Մակաի, Շ. Մակաի

Դեղաբույսերի տարբեր հանուկների հակաօքսիդանտային և հակառադիկալային ակտիվությունների ուսումնասիրությունը վերջին ժամանակներում լայն տարածում է գտել: Հոռոմչամանը հանդիսանում է տոկոֆերոլներ և պոլիֆենոլներ պարունակող բույս, ուստի հետաքրքիր է ուսումնասիրել բույսի հակառադիկալային ակտիվությունը և պոլիֆենոլների քանակական պարունակությունը տարբեր տարածաշրջաններում աճող բույսի տարատեսակների մոտ:

Հակառադիկալային ակտիվությունը ուսումնասիրվել է *in vitro* պայմաններում, որտեղ պերօքսիլ ռադիկալների գեներատորի դեր կատարել է 2,2-ազոբիս – (2 ամիդոնալոպատան) դիհիդրոքսիդրիդը:

Պոլիֆենոլների քանակական ուսումնասիրությունը իրականացվել է սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով օգտագործելով Ֆոլին- Զիոկալտետի ռեակտիվը:

Հետազոտության արդյունքում պարզվել է՝ տարբեր տարածաշրջաններում աճող հոռոմչամանի հանուկները օժտված են նշանակալի հակառադիկալային ակտիվությամբ և պոլիֆենոլների քանակությամբ վիճակագրորեն չեն տարբերվում:

Comparative study of antiradical activity of *Trigonella foenum-graecum* L. seed extracts from Armenian, Hungarian and Indian samples

L. A. Melikyan, R.A. Ivanova, A.P. Daskaliuk, H.P. Alexanyan,
A.S. Hovhannisyanyan, E.S. Gabrielyan, P. Makai, Sh. Makai

Recently there has been a growing interest in the food industry and in preventive health care for the development and evaluation of natural antioxidants from medicinal plant materials. Thus, there is a need for screening studies in order to select plant extracts or plant raw materials with strong antiradical activity, that could be used as medicines or substances to protect food from oxidation.

The *Trigonella foenum-graecum* L. seed extracts from Armenian, Hungarian and Indian samples have been evaluated for antioxidant activity using various *in vitro* assay systems.

Extracts at high concentrations acted as a scavenger of 2,2'-azinobis(2-amidinopropan)-2-Dihydrochlorid (ABAD[.-]) radicals. The total phenolic content in the extracts was determined by spectrophotometer according to the Folin-Ciocalteu procedure and expressed as mg or mM gallic acid equivalents.

The results indicate that the extracts from fenugreek seeds growing in various areas contain antioxidants and could protect cellular structures from oxidative damage. These findings provide evidence for the *in vivo* beneficial effects of the seeds reported in the literature.

Литература

1. Европейская Фармакопея, 2001, с. 3.
2. Иванова Р.А., Прида А.А. Изучение антирадикальных свойств сухих экстрактов полифенол содержащего сырья. Мат. VIII Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения», Санкт-Петербург, 2004, с. 431-434.
3. Иванова Р.А., Прида А.А., Касьян И.Г. Влияние содержания полифенольных соединений на антирадикальную активность растительных экстрактов. Мат. IX Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения», Санкт-Петербург, 2005, с. 83-87.
4. Иванова Р.А., Касьян И. Г. Содержание оксикоричных и оксibenзойных кислот в спиртовых экстрактах плодов и ягод и их антирадикальная активность. Изв. АН Молдовы. Науки о жизни. Кишинев, 2006, 2, с. 42-46.
5. Макай П.Ш., Макай Ш., Меликян Л. А., Каримян Н.С., Оганесян А.С., Нестерова И. М. Сравнительное исследование содержания макро- и микроэлементов в семенах венгерских и армянских образцов *Trigonella foenum-graecum* L. Вестник МАНЭБ, 2006, 11, (8), с. 225-228.
6. Artaud J., Latrides M. C., Baccou J., Sauvaire Y. Particularites de la composition sterolique des huiles de deux *Trigonella*, Rev. Fse. Corps. Gras., 1988, 35, p. 435-440.
7. Brenac P., Sauvaire Y. Accumulation of sterols and steroidal sapogenins in developing fenugreek pods: biosynthesis *in situ*, Phytochemistry, 1996, 4, p. 415-422.
8. Brenac P., Sauvaire Y. Chemotaxonomic value of sterol and steroidal sapogenins in genus *Trigonella*, Biochemical Systematic and Ecology, 1996, 24,2, p. 157-164.

9. *Heftmann E.* In: *Isopentenoids in Plants, Biochemistry and Function* (Nes, W. D., Fuller, G. and Tsai, L. S., eds), 1984, MD, NY. p. 487-518.
10. *Ivanova R.* The potentiometric assay for measurement of peroxyl radical scavenging capacity of plant extracts, *Herba polonica*, 2007, 53, 2, p. 136-137.
11. *Makai P., Makai S., Csavajda E.* Comparative test of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) varieties and biological value. *Advanced Biological Technologies and their Impact on Economy Natural product: Technologies for their Capitalization in Agriculture, Medicine, and Food Industry*, Chisinau, 2005, Moldova.
12. *Makai P. S., Makai S., Csavajda E., Varga L.* Studies on chemical constituents from the fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) and therapeutic applications. 2nd International Conference Neural- Humoral and Cellular Regulatory Mechanism of Digestion Processes. October 5-7, 2005, Kyiv, UKRAINE /abstract book 7.p./
13. *Makai P. S., Makai S.* Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) varieties and germ number tests. Modern problems of plant growing in the Republic of Belarus and in Hungary. Collection of the scientific works. Belarussian State Agricultural Academy, Gorki, 2004, p.24-25.
14. *Sano M., Yoshida R., Degawa M. et al.* Determination of peroxyl radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51 (10), p.2912-2916.
15. *Sauvaire Y., Ribes G., Baccou J. K. & Loubatieres-Mariani M.* Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek, *Lipids*, 1991, 26, p. 191- 197.
16. *Sharma R. D.* Effect of fenugreek seeds and leaves on blood glucose and serum insulin responses in human subjects, *Nutrition Research*, 1986, p. 1353 - 1364.