

¹Мурсалиева В.К.,
¹Кожебаева Ж.С.,
¹Рахимбаев И.Р.,
²Гемеджиева Н.Г.

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Казахстан, г. Алматы
²Институт ботаники и фитоинтродукции, Казахстан, г. Алматы

Качественный и количественный анализы сапонинов туркестанского мыльного корня *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk

Аллохруза качимовидная *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk. (сем. Caryophyllaceae Juss.) туркестанский мыльный корень (ТМК) является одним из ценнейших технических и лекарственных растений, официально включен в отечественную фармакопею и имеет практическое применение во многих отраслях отечественной промышленности. Целью исследования было качественное и количественное изучение сапонинов ТМК, произрастающего на территории Южно-Казахстанской области. В результате качественных реакций в растительном сырье обнаружены тритерпеновые сапонины. Проведение ТСХ после кислотного гидролиза в различных системах растворителей позволило идентифицировать олеаноловую кислоту, которая является агликоном тритерпеновых сапонинов ТМК. Содержание сапонинов составило в корнях 7,63%, в надземной части – 2,29%. Выявлена высокая поверхностная активность (пенное число 1: 6660) и значительная гемолитическая активность (НІ 3333) водных и этанольных извлечений из корня, отличающихся повышенным содержанием сапонинов по сравнению с надземной частью растения ТМК.

Ключевые слова: *Allochrusa gypsophiloides*, туркестанский мыльный корень, тритерпеновые сапонины, олеаноловая кислота, пенное число, гемолитический индекс.

¹Mursaliyeva V.K.,
¹Kozhebayeva Zh.S.,
¹Rakhimbayev I.R.,
²Gemejiyeva N.G.

¹Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty
²Institute of Botany and Phytointroduction, Kazakhstan, Almaty

Qualitative and quantitative analysis of saponins in *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk

Allochrusa gypsophiloides is one of the most valuable technical and medicinal plants, officially included into the national pharmacopoeia, and having practical applications in many fields of the domestic industry. The aim of this study was a qualitative and quantitative study of saponins from *Allochrusa gypsophiloides* collected in South Kazakhstan region of the Republic of Kazakhstan. The results of qualitative reactions show the presence of triterpenic saponins in plant material. The aglycone of triterpenic saponins as oleanolic acid was identified by thin layer chromatography in variety solvent systems after acid hydrolysis. The content of triterpenic saponins in *Allochrusa gypsophiloides* collected during flowering–fruiting phase was determined by the spectrophotometric method. The content of the sum of triterpenic saponins in terms of oleanolic acid in roots was 7.63% and 2.29% in aerial part of plant. The foaming and hemolytic activities of saponins extracted from *Allochrusa gypsophiloides* were evaluated. High surface (foaming ratio 1:6660) and significant hemolytic activities HI 3333 for aqueous and ethanolic extracts from roots differing with a high saponins content compared to aerial part of *Allochrusa gypsophiloides* it was revealed.

Key words: *Allochrusa gypsophiloides*, triterpenes saponins, oleanolic acid, hemolytic index.

¹Мурсалиева В.К.,
¹Кожебаева Ж.С.,
¹Рахимбаев И.Р.,
²Гемеджиева Н.Г.

¹Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.
²Ботаника және фитоинтродукция институты, Қазақстан, Алматы қ.

Түркістандық сабыншөп *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk сапониндерінің сапалық және сандық талдауы

Түркістандық сабыншөп отандық фармакопеяға ресми енгізілген дәрілік және отандық өндірістің көптеген салаларында практикалық қолданылатын бағалы техникалық өсімдіктердің бірі болып табылады. Бұл зерттеу жұмысының мақсаты – Оңтүстік Қазақстан облысы аумағында өсетін түркістандық сабыншөптің *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk. (Caryophyllaceae Juss.) сапониндерін сапалық және сандық зерттеу. Сапалық реакциялардың нәтижесінде өсімдік құрамында үштерпенді сапониндер анықталды. Өртүрлі ерітінділер жүйесінде қышқылдық гидролиздан кейін жұқа қабатты хроматография жүргізу нәтижесінде түркістандық сабыншөптің үштерпенді сапониндерінің агликоны болып табылатын олеанол қышқылы табылды. Тамырында сапониндердің мөлшері – 7,63%, ал жерүсті бөлігінде – 2,29%. Түркістандық сабыншөптің жерүсті бөлігімен салыстырғанда сапониндердің жоғары мөлшерімен ерекшеленген тамырдан бөлініп алынған сулы және этанолды сығындылардың жоғары беттік (көбіктену саны 1:6660) және айтарлықтай НІ 3333 гемолитикалық белсенділіктері анықталды.

Түйін сөздер: *Allochrusa gypsophiloides*, түркістандық сабыншөп, үштерпенді сапониндер, олеанол қышқылы, гемолитикалық индекс.

**КАЧЕСТВЕННЫЙ И
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ
АНАЛИЗЫ
САПОНИНОВ
ТУРКЕСТАНСКОГО
МЫЛЬНОГО КОР-
НЯ ALLOCHRUSA
GYPSOPHILOIDES
(REGEL) SCHISCHK**

Allochrusa gypsophiloides (Regel) Schischk. (*Acanthophyllum gypsophiloides* Rgl., аллохруза качимовидная, колючелистник качимовидный, туркестанский мыльный корень (ТМК), казах. – «жерсабын», англ. – «turkestan soaproot») эндемичный среднеазиатский вид из рода *Allochrusa* семейства Гвоздичные (*Caryophyllaceae* Juss.) [1].

Долгие годы ТМК являлся предметом экспорта как ценный источник растительных сапонинов. Промышленные заготовки мыльного корня осуществлялись на территории республик Средней Азии и Казахской ССР. Вследствие истощения естественных зарослей в среднеазиатских республиках, с 50-х годов Казахстан являлся единственным поставщиком ТМК. Ежегодные плановые объемы сбора сухих корней достигали 700–800 т [2]. В результате многолетних интенсивных и бессистемных заготовок ТМК как редкий вид с сильно сокращающейся численностью был занесен в 1981 г в Красную книгу КазССР [3].

По сравнению с аналогичными сапониносными растениями, произрастающими на территории СНГ (мыльнянка лекарственная *Saponaria officinalis*, качим метельчатый *Gypsophila paniculata* и др.), ТМК отличается повышенным уровнем в корнях тритерпеновых сапонинов олеанолового ряда. Из них выделены сапонины акантофиллазиды В, С и D – производные гипсогенина и квилаевой кислоты [4, 5].

Способность сапонинов ТМК образовывать с водой стойкую пену используется в быту (мыло, добавка в муку для выпечки пышного хлеба), при производстве шампуней, жидкостей для ванн и других моющих средств. Свойство сапонинов ТМК удерживать газы применяется в пищевой промышленности (при изготовлении халвы, кремов, взбитых сливок, шипучих вин, пива, прохладительных напитков), а также в качестве пенообразующего компонента при получении противопожарных смесей. В 60-80-х годах технический сапонин ТМК применялся при изготовлении пенобетона, для повышения технологических качеств бетона, теплоизоляционных свойств и долговечности бетонных сооружений, ирригационных систем. Следует отметить, что в последние десятилетия использование ТМК значительно ограничилось из-за резкого сокращения численности вида в результате бессистемных заготовок. В последнем

издании Красной книги Казахстана в качестве необходимых мер охраны природных зарослей ТМК указано, что «...необходимо введение лицензионного сбора. Ограничить ежегодный объем заготовок, контролировать состояние возобновления, шире вводить в культуру» [6].

В результате проводимых с 1999 года исследований сотрудниками Института ботаники и фитоинтродукции было установлено, что в местах, которые длительное время не были подвержены антропогенной нагрузке (а именно перевыпасу), природные популяции мыльного корня восстанавливаются и можно практиковать выборочные заготовки. Для восстановления и сохранения природных популяций оптимальнее возобновить выращивание туркестанского мыльного корня в культуре, которое было апробировано почти полвека назад в Казахстане и Узбекистане [7].

ТМК является одним из ценнейших лекарственных растений флоры Казахстана, который включен в официальную фармакопею [8]. Тритерпеновые сапонины ТМК применяют как отхаркивающие, мочегонные, слабительные и тонизирующие средства, а также в составе пероральных фитопрепаратов [9].

В недавних исследованиях выявлена высокая иммуностимулирующая [10], противовирусная [11], противоопухолевая [12] активность экстрактов ТМК, основанная на способности сапонинов усиливать иммуногенность различных антигенов.

Таким образом, проведенный анализ литературных источников свидетельствует о том, что ТМК является экономически важным отечественным сапониноносным растением.

Цель исследования – изучение качественного состава сапонинов ТМК и определение их количественного содержания.

Материалы и методы исследования

Для проведения анализов использовали растительный материал аллохрузы качимовидной, собранный в фазе цветения – начале плодоношения в июле 2015 г. в ходе экспедиционного обследования природных популяций ТМК на территории Южно-Казахстанской области [13].

Собранные исследуемые образцы ТМК предварительно подвергались обработке и удалению механических примесей, а также сушке при комнатной температуре и измельчению до определенного состояния в соответствии с требованиями ГОСТА 24027. 1-80. Определение влажности

сырья и выхода экстрактивных веществ проводили в соответствии с ГОСТОМ 24027. 2-80. Макроскопический анализ сырья ТМК проводили по ГОСТУ 3448-78 Корень колючелистника. Технические условия.

Для качественного анализа готовили водное и спиртовое извлечение в соотношении 1:10 и проводили с ними специфически на присутствие сапонинов реакции: пенообразование, гемолитическая активность, осаждение ацетатом свинца, реакция Лафона, реакция Сальковского и др. [14].

Пенообразующую активность водного извлечения оценивали по трехбалльной системе: 1 балл – слабое пенообразование, не более 15 сек.; 2 балл – среднее пенообразование. образуется значительное количество пены, которая держится до 30 сек.; 3 балла – хорошее пенообразование, реакция держится более 1 мин.

Пенное число определяли по формуле $A = 1/K$, где А – показатель содержания сапонинов; К – наименьшая концентрация сапонинового извлечения, которое образует пену, не исчезающую в течение 1 минуты.

Для оценки гемолитической активности готовили извлечение на изотоническом растворе натрия хлорида 1:10 и настаиванием на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Раствор охлаждали и пропускали через фильтр в мерную колбу и объем его доводили до 100 мл. К 2 мл извлечения добавляли 2 мл 2% взвеси дефибринированной крови. В присутствии сапонинов образуется прозрачный красный раствор («лаковая кровь»). При определении гемолитического индекса (НИ) готовили ряд разведений различной концентрации (1: 2000; 1: 1000; 1: 665; 1: 500; 1: 400; 1: 335; 1: 285; 1: 250; 1: 220; 1: 200). К каждому разведению добавляли по 1 мл взвеси эритроцитов (2% свежей дефибринированной бараньей крови в изотоническом растворе) и встряхивали. Результаты гемолиза оценивали через час и сутки и рассчитывали результат. Гемолитическая активность водной вытяжки оценивали по гемолитическому индексу НИ, который рассчитывали по формуле:

$$HI = \frac{m * v}{a * b}$$

где, m – исходная навеска; v – исходный объем; a – начальная концентрация раствора, %; b – объем первичного раствора в пробирке, содержащее которой вызывает полный гемолиз, мл.

Для подтверждения качественных реакций дальнейшую идентификацию сапонинов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil» (Сорбполимер, Россия) в различных системах растворителей: хлороформ-этиловый спирт-вода (13:6:1); н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1); хлороформ-метанол-вода (65:50:10); петролейный эфир-хлороформ-ацетон (20:20:5).

Для качественного определения методом ТСХ проводили пятикратную экстракцию 96%-ным этиловым спиртом на кипящей водяной бане с обратным холодильником. После фильтрации и выпаривания эликвоты объемом 10 мл проводили гидролиз сухого остатка в 10 мл смеси: кислота уксусная ледяная – кислота хлористоводородная – вода очищенная (3,5:1: 5,5), нагревая на водяной бане в течение 2 ч. После гидролизную смесь разбавляли двукратным объемом воды и фильтровали. Выпавший осадок на фильтре промывали водой и растворяли в 25 мл горячего 96% этилового спирта и собирали в мерной колбе на 25 мл. В качестве свидетеля использовали стандартный образец (СО) кислоты олеаноловой («SigmaAldrich», США). После хроматографирования пластинки после разделения в системах проявляли 10 % раствором серной кислоты. Обработанные пластинки высушивали в термостате в течение 10 мин при температуре 110°C. По литературным данным зоны адсорбции веществ тритерпеновой природы и СО олеаноловой кислоты должны иметь окраску розового-вишневого цвета, переходящего в голубой [15].

Определение содержания суммы тритерпеновых сапонинов проводили спектрофотометрическим методом после реакции взаимодействия с концентрированной серной кислотой, в результате которой тритерпеноиды протонируются по двойной связи с образованием карбокатиона, а при наличии карбоксильной группы при С-28 имеет место последующая лактонизация. При этом наблюдается характерный максимум поглощения при 310 нм [16, 17]. Данный метод позволяет количественно определить всю сумму тритерпеновых гликозидов, производных олеаноловой кислоты независимо от числа и структуры углеводных остатков в составе их молекул. УФ спектрофотометрическое определение тритерпеновых гликозидов при взаимодействии с серной кислотой применяется в анализе корневищ аралии маньчжурской [18], язвенника ранозаживляющего [19], золотарника кавказского [20], грыжника голого [21], ферулы хермонской [22] и др.

Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Jenway 6305 (Англия) при длине волны 310 нм, раствор сравнения – концентрированная серная кислота. Параллельно выясняли оптическую плотность СО олеаноловой кислоты в аналогичных условиях проведения эксперимента. Расчет содержания суммы сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту проводили по формуле:

$$X \% = \frac{A_x * m_o * 250 * 25 * 100 * 100}{A_o * m_x * 25 * (100 - W_o)}$$

где, A_x – оптическая плотность исследуемого раствора; m_o – масса стандартного образца олеаноловой кислоты в г; m_x – масса сырья в г; A_o – оптическая плотность олеаноловой кислоты; W_o – потеря в массе сырья при высушивании.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием параметрического критерия Стюдента согласно ГФ XI [23].

Результаты исследования

Проведенный макроскопический анализ показал, что собранное сырье корней ТМК полностью соответствовало стандартным требованиям: по внешнему виду собранное сырье представляло тяжелые, твердые, цилиндрической формы куски выкопанных корней, очищенные от земли и боковых ответвлений. Большей частью спирально перекрученные с неравномерной морщинистой поверхностью, покрытой сетью многочисленных мелких поперечных углублений (в виде тонких кольцевых линий), глубоких продольных бороздок и трещин, со следами округлых рубцов, оставшихся после удаления боковых корней. Излом корней неровный. Цвет корней – снаружи светло-бурый, внутри желтоватый с белыми прожилками, вкус – слегка жгучий, раздражающий (рисунок 1).



Рисунок 1 – Внешний вид туркестанского мыльного корня

Процент влажности надземной части растения составил в среднем $9,84 \pm 0,14\%$, у корней $9,00 \pm 2,40\%$. Содержание экстрактивных веществ в корнях варьировало в зависимости от природы используемого экстрагента и составило: вода – $53,31 \pm 2,93\%$; 50 % этанол – $54,20 \pm 1,51\%$; 90 % этанол – $24,38 \pm 0,99$

%.

Количество экстрактивных веществ растений, извлекаемых водой и 50 % этиловым спиртом, достоверно не отличаются друг от друга.

Результаты проведения качественных реакций водным и спиртовым извлечениями из ТМК представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты проведения качественных реакций на наличие тритерпеновых сапонинов в туркестанском мыльном корне

Качественная реакция	Извлечение (1:10)	Результаты реакции
Реакция на пенообразование в кислой и щелочной среде	водное	в обеих пробирках пена, ровная по объему и стойкости
Реакция осаждения средним ацетатом свинца	спиртовое	белый осадок через сутки
Реакция Лафона	водное спиртовое	при нагревании темно-зеленое окрашивание, внутри шарикообразный осадок белого цвета
Реакция Сальковского	спиртовое	верхняя фаза бежевый цвет, нижний слой в желто-красный цвет
Реакция со спиртовым раствором холестерина	спиртовое	бежевый осадок

Результаты идентификации тритерпеновых сапонинов в ТМК по характеру окраски пятен методом ТСХ на пластинках «Sorbfil» в различных системах растворителей до и после гидролиза представлены в таблице 2.

Данные оценки пенообразующей активности водной вытяжки в зависимости от разведения показаны в таблице 3.

Важным свойством сапонинов является способность вызывать разрушение эритроцитов вследствие их взаимодействия со стеринами мембраны эритроцитов, что приводит к увели-

чению их проницаемости и свободному выходу гемоглобина в плазму крови и образованию красного прозрачного раствора «лаковая кровь». Количественное определение сапонинов гемолитическим методом основано на предположении, что гемолитическое действие прямо пропорционально количеству вещества в растворе. Гемолитический индекс (HI) – это наименьшая концентрация извлечения из 1 г сырья, которая вызывает полный гемолиз эритроцитов, содержащихся в 1 мл 2 % раствора дефибрированной крови [9].

Таблица 2 – Результаты ТСХ тритерпеновых сапонинов в спиртовом извлечении ТМК до и после гидролиза

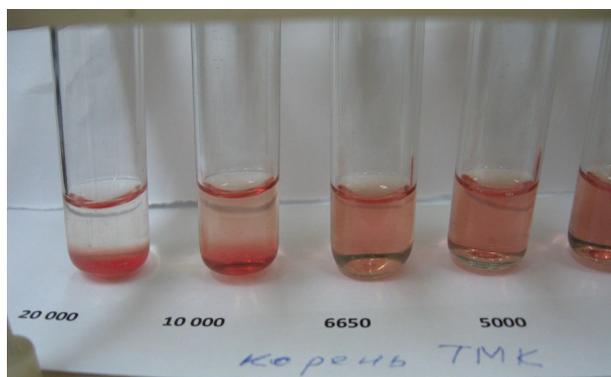
Система растворителей	Цвет пятен и R _f на хроматограмме после проявления 10%-м раствором серной кислоты и нагревания					
	до гидролиза		после гидролиза		олеаноловая кислота	
Хлороформ-этиловый спирт-вода (13:6:1)	-		голубовато-фиолетовый	0,62	вишнево-фиолетовый	0,99
			вишнево-фиолетовый	0,95		
Бутанол-уксусная кислота-вода (4:5:1)	темно-серый	0,21	голубовато-фиолетовый	0,66	вишнево-фиолетовый	0,96
			вишнево-фиолетовый	0,96		
Хлороформ-метанол-вода (65:50:10)	темно-серый	0,92	вишнево-фиолетовый	0,95	вишнево-фиолетовый	0,95
Петролейный эфир-хлороформ-ацетон (20:20:5)	-		вишнево-фиолетовый	0,2	вишнево-фиолетовый	0,3

Таблица 3 – Пенообразующая способность водных вытяжек туркестанского мыльного корня

Вытяжка, мл	Вода, мл	Конечное разведение	Пенообразование в баллах
вытяжка из корня (1:100)			
1	39	1:4000	3
0,6	39,4	1:6660*	3
0,5	39,5	1:8000	2- 3
0,4	39,6	1:10000	2
0,2	39,8	1:20000	2
вытяжка из надземной части (1:100)			
1	39	1:4000	1
0,6	39,4	1:6660	1
0,5	39,5	1:8000	0
0,4	39,6	1:10000	0
0,2	39,8	1:20000	0

Примечание : * – наименьшее разведение, при котором образуется устойчивая пена, 3 – хорошее, 2 – среднее, 1 – слабое, 0 – полное отсутствие пены

На рисунке 2 приведен результат качественной реакции на гемолитическую активность вытяжки корней ТМК, приготовленной на изотоническом растворе.

**Рисунок 2** – Гемолитическая реакция вытяжки ТМК при различных разведениях

На приведенном рисунке 2 видно, что в пробирке с максимальным разбавлением водной вытяжки из корней ТМК наблюдается почти бесцветный раствор с осадком красных телец на дне, что свидетельствует об отсутствии реакции гемолиза эритроцитов. Потом следует пробирка с окрашенным в красный цвет раствором, но с осадком на дне (частичный гемолиз). В последующих пробирках раствор окрашен в ярко-красный цвет без осадка на дне, что указывает на наличие полного разрушения эритроцитов.

Результаты оценки гемолитической активности вытяжки сырья ТМК, приготовленного на изотоническом растворе представлены в таблице 4.

Результаты определения суммы сапонинов в корнях и надземной части аллохрузы качимовидной в пересчете на олеаноловую кислоту и абсолютно сухое сырье представлены в таблице 5.

Обсуждение результатов

При проведении пробы на образование пены, характерной именно для сапонинов, обнаружено, что пена образуется как в кислом р-ре 0,1 н. HCl, так и в щелочном р-ре 0,1 н. NaOH, что свидетельствует о наличии в исследуемом сырье тритерпеновых сапонинов. При проведении с водным и спиртовым извлечениями реакции Лафона с концентрированной кислотой, этанолом и 10 % р-ром сернокислого железа после нагревания отмечали сине-зеленое окрашивание и появление внутри раствора характерного шарикообразного осадка. При смешивании спиртовой вытяжки в хлороформе с равным объемом концентрированной серной кислоты верхняя фаза раствора окрашивалась в бежевый цвет, нижний слой (серная кислота) в желто-красный цвет. При добавлении к спиртовой вытяжке спиртового раствора холестерина отмечалось появление бежевого осадка. Данные качественные реакции свидетельствуют о наличии в сырье ТМК тритерпеновых сапонинов.

Таблица 4 – Оценка гемолитической активности водных вытяжек из надземной части и корней туркестанского мыльного корня

Физиологический раствор, мл	Вытяжка, мл	Разведение	Гемолиз, через час	Гемолиз, через сутки	HI
вытяжка из надземной части (1:100)					
0,9	0,1	1:2000	--	±	
0,8	0,2	1:1000*	--	+	500
0,7	0,3	1:665	+	+	
0,6	0,4	1:500	+	+	
0,5	0,5	1:400	+	+	
0,4	0,6	1:335	+	+	
0,3	0,7	1:285	+	+	
0,2	0,8	1:250	+	+	
0,1	0,9	1:220	+	+	
0	1	1:200	+	+	
вытяжка их корня (1:1000)					
0,9	0,1	1:20000	--	-	
0,8	0,2	1:10000	--	-	
0,7	0,3	1:6650*	+	+	3333
0,6	0,4	1:5000	+	+	
0,5	0,5	1:4000	+	+	
0,4	0,6	1:3350	+	+	
0,3	0,7	1:2850	+	+	
0,2	0,8	1:2500	+	+	
0,1	0,9	1:2200	+	+	
0	1	1:2000	+	+	

Примечание : HI – гемолитический индекс. + – наличие гемолиза, – отсутствие гемолиза, ± – частичный гемолиз, * – наибольшее разведение, при котором происходит гемолиз

Таблица 5 – Содержание тритерпеновых сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту в туркестанском мыльном корне

Часть растения	Содержание сапонинов, %	Метрологические характеристики (n=5, p=95 %, tp = 2,78)	
		S _x -	ε, %
Корень	7,63± 0,31	0,1125	4,10
Надземная часть	2,29 ± 0,17	0,0706	8,54

Примечание: S_x- стандартное отклонение среднего значения, ε – относительная ошибка определения

Результаты качественных реакций подтверждены методом ТСХ в четырех различных системах растворителей. После хроматографирования суммарного спиртового извлечения проявилось неидентифицированное пятно в системах 2 и 3 с R_f 0,21. Тогда как при разделении спиртового извлечения после гидролиза во всех 4 системах проявилось пятно, совпадающее по вишнево-

фиолетовой окраске и близкое по значению R_f со стандартом олеаноловой кислоты (табл.2).

Оценка пенообразующей активности различных частей растения ТМК показала, что водная вытяжка из надземной части слабо пенится (1б), а из корней имеет хорошее пенообразование (3 б), которое продолжалось более 1 мин. Наиболее устойчивое пенообразование отмечалось

при разведении исходного отвара (1:100) в количестве 0,6 и 1 мл в 66,6 и 40 раз, при этом конечное разведение (или пенное число) составило 1:4000 и 1:6660 (табл.3). Проведенный анализ по методу пенообразования дает основание предположить, что растительное сырьё ТМК с высоким ПЧ 1:6660, собранное из природных популяций на территории ЮКО, содержит значительное количество тритерпеновых сапонинов.

Анализ данных, приведенных в таблице 4, свидетельствует о том, что вытяжка из надземной части ТМК (исходная 1:100) обладает гемолитической активностью, но вызывала разрушение эритроцитов только через сутки воздействия и при конечном разведении вытяжки 1:1000. Гемолитический индекс НИ вытяжки относительно невысокий и равен 500.

Гемолитическая активность более разбавленной вытяжки из корней (исходная 1:1000) была значительно выше. Заметно выраженный гемолиз проявлялся в течение первого часа при конечном наибольшем разведении 1: 6650. Высокий гемолитический индекс НИ 3333 связан с более высоким содержанием в корнях сапонинов.

Для сравнения гемолитические индексы, приведенные для других сапониноносных растений: семена каштана – 6000; корень солодки –250–300; корень мыльнянки – 2600– 3900; корень сенегги –2500–4500 [14].

По различным литературным источникам гемолитический индекс туркестанского мыльного корня составляет 1:1000 или 1:2860, а надземной части 1:240 [2, 4, 24]. Результаты собственных экспериментальных исследований выявили более высокий гемолитический индекс вытяжки ТМК, собранного из природных популяций на территории ЮКО на фазе цветения и начале плодоношения.

Спектрофотометрическое количественное определение сапонинов выявило высокое содержание в корнях 7,63% и почти в три раза меньше в надземной части, 2,29%. Результаты статистической обработки данных показали, что относительная ошибка определения при доверительной

вероятности 95 % находится в пределах, соответственно 4,10% и 8,54 %.

Сравнение полученных результатов по содержанию сапонинов с данными других исследований несколько затруднительно, поскольку использовались разные методики количественного анализа, исследуемые образцы растений произрастали в различных природных условиях и, вероятно, отбирались для анализа на разных фазах развития. В наших исследованиях содержание сапонинов определяли спектрофотометрически в пересчете на олеаноловую кислоту, которая является агликоном тритерпеновых сапонинов (в том числе и сапонинов ТМК) по методу, разработанному для определения сапонинов в корневищах аралии маньчжурской [18].

В исследованиях ранее проведенных с аллохрузой качимовидной, произрастающей на территории Узбекистана, выявленное содержание сапонинов составило в надземной части 0,79%, в корнях от 14,19 до 22,16% в зависимости от их возраста [1, 2, 4].

Таким образом, проведенный качественный и количественный анализ сапонинов туркестанского мыльного корня, произрастающей на территории ЮКО выявил значительное содержание тритерпеновых сапонинов олеанолового ряда, обладающих высокой поверхностной и гемолитической активностью. Полученные данные позволяют утверждать, что создание сырьевой базы аллохрузы качимовидной *Allochrusa gypsophiloides* в условиях Южно-Казахстанской области является целесообразным и рекомендуется вид для дальнейшей интродукции в качестве перспективного источника тритерпеновых сапонинов с высокой биологической активностью.

Работа выполнена в рамках гранта «Разработка эффективных технологий размножения, сохранения гермоплазмы и восстановления деградирующих природных популяций эндемичного растения – туркестанского мыльного корня (*Allochrusa gypsophiloides* Regel) для рационального использования его генетических ресурсов в промышленности» (2015-2017 гг.)

Литература

- 1 Eisenman S.W., Strume L., Zaurov D.E. Medical plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan. Springer Science & Business Media, 2012. – 340 p.
- 2 Беспаяев С.Б. Колочелистик качимовидный в Казахстане. (морфология, систематика, фитоценология, испытания в культуре): дис ... канд. биол. наук: 02.06.1966 / Казахский государственный университет им С.М. Кирова. – Алматы, 1966. – 183. – С. 3.
- 3 Красная книга Казахской ССР. Ч. 2. – Алма-Ата, 1981. – С. 25.

- 4 Kondratenko, E.S., Putieva, Z.M., Abubakirov, N.K. Triterpene glycosides of plants of the family Caryophyllaceae // Chemistry of Natural Compounds. – 1981. – N. 17. – P. 303–317.
- 5 Battger S., Melzig M.F. Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family // Phytochemistry Letters, 2001. – V. 4. – N. 2. – P. 59-68.
- 6 Красная книга Казахстана. Изд. 2-е, переработанное и дополненное. – Том 2: Растения (колл. авторов). – Астана: ТОО «АртPrintXXI», 2014. – С. 60.
- 7 Кузьмин Э.В., Тугельбаев С.У., Ситпаева Г.Т.К вопросу о восстановлении популяции краснокнижного растения (*Allochrusa gypsophiloides* Rgl.) в Южном Казахстане: Изучение растительного мира Казахстана и его охраны // Сб. научных статей. – Алматы, 2001. – С. 191-194.
- 8 Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – Алматы, 2014. – С. 55.
- 9 Карпук В.В. Фармакогнозия. Минск, 2011. – С. 202-221.
- 10 Khudaykova S.S., Bogoyavlenskij V.P., Tolmatscheva V.P., Berezin V.E. Salaš, P. Immunostimulating activity of saponins from Caryophyllaceae // Proceedings of 9th Int. Conf. of Horticulture. – 2001. – V. 2. – P. 343-347.
- 11 Алексюк П.Г., Молдаханов Е.С., Аканова К.С., Анаркулова Э.И., Богоявленский А.П. Стандартизация сапонинсодержащих препаратов, обладающих противовирусной активностью // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 6. – С. 80-81.
- 12 Man S., Gao W., Zhang Y., Huang L., Liu C. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents // Fitoterapia. – 2010. – V.81 (7). – P. 703-714.
- 13 Гемеджиева Н.Г., Мурсалиева В.К., Муханов Т.М. Оценка современного состояния природных популяций *Allochrusa gypsophiloides* (Regel) Schischk. в Южно-Казахстанской области // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2016. – №1 (313). – С. 22-29.
- 14 ёКовалев В.Н., Попова Н.В., Кисличенко В.С. Исакова Т.И. Практикум по фармакогнозии. – Харьков: Из-во «Золотые страницы», 2003. – С. 294 – 316.
- 15 Сур С.В. Методы выделения, идентификации и определения терпеновых соединений // Химико-фармацевтический журнал. – 1990. – № 5. – С.45-50.
- 16 Оганесян Э.Т. О механизме реакции тритерпенидов с серной кислотой // Химия природных соединений. – 1980. – №4. – С.647-651.
- 17 Мироненко И.В., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф. УФ-спектрофотометрическое определение тритерпеновых сапонинов – производных олеаноловой кислоты // Химия растительного сырья. – 2011. – №3. – С. 153-157.
- 18 Писарев Д.И., Мартынова Н.А., Нетребко Н.Н., Новиков О.О., Сорокопудов В.Н. Сапонины и их определение в корневищах аралии маньчжурской в условиях Белгородской области // Химия растительного сырья. – 2009. – № 4. – С. 197-198.
- 19 Шадрин Д.М., Пылина Я.И., Володина С.О., Володин В.В. Химический анализ растений *Anthyllis vulneraria* L., произрастающей на Европейском северо-востоке России // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13. – № 1(4). – С. 945 – 947.
- 20 Федотова В.В., Оганесян Э.Т., Челомбитько В.А. Тритерпеновые гликозиды травы *Soldagocausasica* Kem.- Nath. // Фармация и фармакология. – 2014. – № 4(5). – С. 52-56.
- 21 Эль Мабруки Х., Наухова И.Е., Сорокин В.В., Минина С.А. Разработка методики количественного определения сапонинов в траве грыжника голого – *Herniariaglabra* L. // Научные ведомости. Серия медицина, фармация. – 2014. – №24 (195). – В. 28. – С. 235- 238.
- 22 Федосеева Л.М., Дали Балтах Б. Изучение сапонинов в подземных органах ферулы хермонской // Химия растительного сырья. – 2016. – №1. – С. 181-184.
- 23 Государственная фармакопея СССР. Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 11 изд. – М.: Медицина, 1991. – 400 с.
- 24 Battger S., Melzig M.F. Triterpenoidsaponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family // Phytochemistry Letters. – 2001. – V. 4, N. 2. – P. 59-68.

References

- 1 Eisenman SW, Strume L, Zaurov DE (2012) Medical plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan. Springer New York, USA. ISBN 13: 978-1461439110
- 2 Bespayev SB (1966) *Acanthophyllum gypsophiloides* in Kazakhstan: morphology, taxonomy, phytosociology, testing in culture. Abstract thesis on scientific degree of candidate of biological sciences [Koljuchilistnik kachimovidnyj v Kazahstane: morfologija, sistematika, fitocenologija, ispytaniya v kul'ture. Avtoreferat dissertacii na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk]. Alma-Ata, Kazakhstan (In Russian)
- 3 Red Data Book of the Kazakh SSR (1981) [Krasnaja kniga Kazahskoj SSR]. Science, Alma-Ata, Kazakhstan, p. 25 (In Russian)
- 4 Kondratenko ES, Putieva ZM., Abubakirov NK (1981) Triterpenoid glycosides of plants of the family Caryophyllaceae, Chemistry of Natural Compounds, 17:303-317. DOI: 10.3762/bjoc.8.87
- 5 Battger S, Melzig MF (2001) Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. Phytochemistry Letters, 4 (2):59-68. DOI: 10.1016/j.phytol.2010.08.003

- 6 Red Data Book of the Kazakhstan. 2nd edition, revised and enlarged (2014) [Krasnaja kniga Kazahstana. Izd. 2-e, pererabotannoe i dopolnennoe] AprPrintXXI, Astana, Kazakhstan, 2: 60. (In Russian)
- 7 Kuzimin EV, Tugelibayev SU, Sitpaeva GT (2001) Plant population reconstruction of *Allochrysa gypsophiloides* Rgl. in Southern Kazakhstan: A Study of Kazakhstan flora and its protection. Collection of scientific articles [K voprosu o vosstanovlenii populiatsii krasnoknizhnogo rasteniia (*Allochrysa gypsophiloides* Rgl.) v Iuzhnom Kazahstane: Izuchenie rastitel'nogo mira Kazahstana i ego okhrany. Sbornik nauchnykh statej] 191-194. (In Russian)
- 8 Grudzinskaya L.M., Gemedzhieva N.G. (2012) List of medicinal plants in Kazakhstan. [Spisok lekarstvennykh rastenij Kazahstana]. Almaty, Kazakhstan. ISBN: 978-601-80248-6-3 (In Russian)
- 9 Karpuk VV (2011) Pharmacognosy [Farmakognozija] Minsk. ISBN: 978-985-518-430-1 (In Russian)
- 10 Khudaykova SS, Bogoyavlenskij VP, Tolmatsheva VP, Berezin VE, Salaš P(2001) Immunostimulating activity of saponin from Caryophyllaceae. Proceedings of 9th Inter. Conf. of Horticulture. Lednice, Czech Republic. 2: 343-347. ISBN 80-7157-524-0
- 11 Alekseyuk PG, Moldakhanov ES, Akanov KS, Anarkulova EI, Bogoiavlenskii AP (2014) Standardization of saponin's drugs with antiviral activity. International Journal of Applied and Fundamental Research [Standartizatsiia saponinsoderzhashchikh preparatov, obladaiushchikh protivovirusnoi aktivnost'iu. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniij] 6:80-81. (In Russian)
- 12 Man S, Gao W, Zhang Y, Huang L, Liu C (2010) Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents, *Fitoterapia*, 81 (7): 703-714. DOI:10.1016/j.fitote.2010.06.004
- 13 Gemejyeva N.G., Mursaliyeva V.K., Mukhanov T.V. Assessment of the current state of *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk. Natural populations in the South-Kazakhstan region. News of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Biology and Medicine [Ocenka sovremennoogo sostojaniia prirodnykh populacij *Allochrysa gypsophiloides* (Regel) Schischk v Juzhno-Kazahstanskoj oblasti. Izvestija NAN RK. Serija biologicheskaja i medicinskaja] 1 (313): 22-29. (In Russian)
- 14 Kovalev VN, Popova NV, Kislichenko VS, Isakova TI (2003) Practical work on Pharmacognosy. [Praktikum po farmakognozii] Kharkiv, 294-316. ISBN: 966-615-192-8; 966-8032-77-2 (In Russian)
- 15 Sur SB (1990) Methods of isolation, identification and determination of terpene compounds. *Pharmaceutical Chemistry Journal* [Metody vydeleniia, identifikatsii i opredeleniia terpenovykh soedinenii. Himiko-farmaceuticheskij zhurnal] 5:42-50. (In Russian)
- 16 Oganessian ET (1980) On the mechanism of triterpenoids reaction with sulfuric acid. *Chemistry of Natural Compounds* [O mekhanizme reaktsii triterpenoidov s sernoi kislotoi. Himija prirodnykh soedinenij] 4:647-651. (In Russian)
- 17 Mironenko IV, Brezhneva TA, Selemenev VF (2011) UV spectrophotometric determination of triterpene saponins – oleanolic acid derivatives. *Chemistry of plant raw materials* [UF-spektrofotometricheskoe opredelenie triterpenovykh saponinov – proizvodnykh oleanolovoi kisloty. Himija rastitel'nogo syr'ja] 3:153-157. (In Russian)
- 18 Pisarev DI, Martynova NA, Netebko NN, Novikov OO Sorokopudov VN (2009) Saponins and their definition in the rhizomes *Aralia manchuriana* from the Belgorod region. *Chemistry of plant raw materials* [Saponiny i ikh opredelenie v kornevishchakh aralii man'chzhurskoj v usloviakh Belgorodskoj oblasti. Himija rastitel'nogo syr'ja] 4:197-198. (In Russian)
- 19 Shadrin DM, Pylina YI, Volodina SO, Volodin VV (2011) Chemical analysis of plant *Anthyllis vulneraria* L., growing in the European north-east of Russia. Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences [Khimicheskii analiz rastenii *Anthyllis vulneraria* L., proizrastaiushchei na Evropeiskom severo-vostoce Rossii. Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk] 13.1(4):945 – 947. (In Russian)
- 20 Fedotova VV, Oganessian AT, Chelombitko BA (2014) Triterpene glycosides in herb of *Solidago caucasica* Kem.- Nath. *Pharmacy and Pharmacology* [Triterpenovye glikozidy travy *Soldago caucasica* Kem.- Nath. armatsiia i farmakologija] 4(5):52-56. (In Russian)
- 21 El Mabrouk X., Naukhova IE, Sorokin VV, Minina SA (2014) Development of method quantitative determination of saponins in the grass *gryzhnika* naked – *Herniaria glabra* L. *Scientific statements. Series Medicine, Pharmacy* [Razrabotka metodiki kolichestvennogo opredelenija saponinov v trave gryzhnika gologo – *Herniaria glabra* L. Nauchnye vedomosti. Serija meditsina, farmatsiia] 24 (195):28:235- 238. (In Russian)
- 22 Fedoseyev LM, Dali Baltakh B. (2016) The study of saponins in the underground organs of *ferrule* kherson. *Chemistry of plant raw materials* [Izuchenie saponinov v podzemnykh organah feruly hermonskoj. Khimiia rastitel'nogo syr'ia] 1:181-184. (In Russian)
- 23 State Pharmacopoeia of the USSR. Is. 2. General methods of analysis. Medicinal plant material. 11 ed. (1991) [Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR. Vyp.2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. 11 izd] Moscow, ISBN: 5-225-00382-6 (In Russian)
- 24 attger S, Melzig MF (2001) Triterpenoid saponins of the Caryophyllaceae and Illecebraceae family. *Phytochemistry Letters*, 4 (2):59-68. DOI: 10.1016/j.phytol.2010.08.003