

Antimikrobno djelovanje saponina soje - Glycine hispida (Mch.) Max. = Soja hispida (Mch.)

Tarle, Đurđica; Kosi-Ćulibrk, Emina

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1991, 47, 233 - 237**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:554422>

Rights / Prava: [In copyright](#) / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Đurđica Tarle i Emina Kosi-Ćulibrk (Zagreb)

Antimikrobrovo djelovanje saponina soje – *Glycine hispida* (Mch.) Max. = *Soja hispida* (Mch.)

(Primljeno 22. 05. 1991.)

Antimicrobial activity of Soyabean saponins – Glycine hispida (Mch.) Max. = Soja hispida (Mch.)

*Summary – From methanolic extract of *Glycine hispida* (Mch.) Max. = *Soja hispida* (Mch.) two individual saponins »B« (Rf 0,51), »C« (Rf 0,73) and mixture of substances »E« (Rf 0,95) and »F« (Rf 0,98) were isolated. Individual saponins and mixture of saponins inhibited the growth of microorganisms *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* ATCC 10336, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* 8236 and *Streptococcus faecalis* 8043.*

(Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb and Institute for the Control of Drugs, Zagreb).

UVOD

Soja, *Glycine hispida* (Mch.) Max. (=*Soja hispida* Mch.) potječe od divlje biljke *G. soja* (L.) Sieb. et Zucc., koja je rasprostranjena u istočnoj Aziji, napose u Kini, Japanu i području Amura. Soja je jednogodišnja biljka s uspravnom i razgranjenom stabljikom, sa trodjelnim velikim listovima i sa ljubičastim ili bijelim cvjetovima u malim nakupinama. Jajaste i raznobojne sjemenke sadrže pored manjih količina škroba mnogo bjelančevina (35–45%) i masnog ulja (oko 17%) (1).

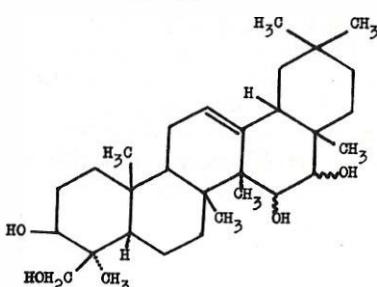
Soja je prastara kultivirana biljka koja se već pred 5000 godina spominje u starim medicinskim knjigama. Jedna je od najvažnijih biljaka u prehrani čovječanstva jer sastav njenih proteina gotovo odgovara animalnim te ih po potrebi može odlično nadomjestiti, zbog čega služi kao sirovina za dobivanje visokovrijednih preparata u farmaceutskoj i prehrabnoj industriji.

Istraživanjem kemizma soje koje je postalo intenzivnije početkom 60-tih godina u SAD ispitivan je saponin soje koji je pokazao in vitro inhibirajući efekt na kolinesterazu, proteolitičku aktivnost na kimotripsin, tripsin i druge enzime te toksičnost na rižin žižak *Sitophilus oryzae* (L.) (2). Prema podacima iz literature, izoliran saponin soje zaustavlja rast nekih oblika tumora, pokazuje antitrombotsku aktivnost i djeluje protiv hiperholesteremije kod štakora (3).

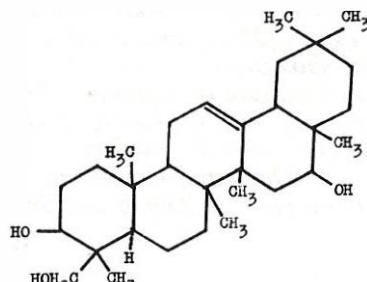
Saponin soje prvi je izolirao S. Muramatsu 1923. god. (4), kao smjesu četiri saponina, A, B, C i D, koji se razlikuju u svojim biološkim aktivnostima (hemolitička aktivnost i stvaranje pjene). Strukturu aglikona saponina soje iznosimo u prilog 1 (4).

Kako se u Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu već godinama obavljaju istraživanja saponinskih droga, poglavito njihova antimikroba učinka, smatrali smo korisnim ispitati soju odnosno saponin soje koji do sada nisu bili ispitivani u pogledu antimikrobne aktivnosti.

Sojasapogenol A $C_{30}H_{50}O_4$



Sojasapogenol B $C_{30}H_{50}O_3$



Prilog 1. Strukturne formule genina saponina (4)

EKSPERIMENTALNI DIO

Ispitivanje materijal

Za ispitivanje je upotrijebljen uzorak soje dobiven od Instituta za zaštitu bilja u Zagrebu*, pod komercijalnim nazivom SIVKA A. Ekstrakt je pripremljen metodom perkolacije po Ph. Jug. IV (5).

Ispitivanje nazočnosti saponina

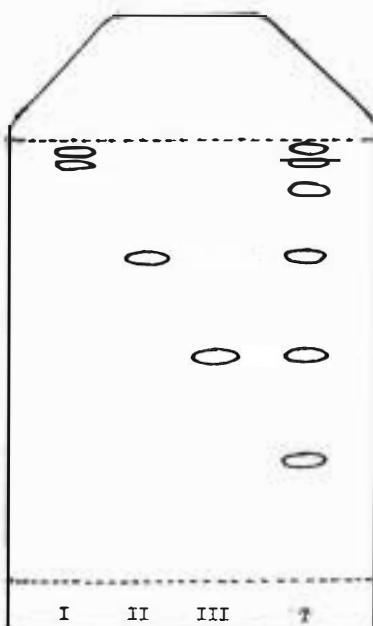
Uzorak droge ispitivan je s obzirom na nazočnost saponina TS-kromatografijom. Ekstrakt je nanesen na ploču sa silikagelom G prema Stahlu. Za razdvajanje saponina upotrijebljen je sistem otapala kloroform-metanol voda 6,5:3,5:1,0 (6), a za detekciju supstancija klorsulfonska kiselina.

Izolacija saponina

Saponini su izolirani iz ekstrakta kromatografijom na stupcu, nakon što je ekstrakt droge propušten preko stupca sephadexa G-25. Saponinske

* Zahvaljujemo Institutu za zaštitu bilja u Zagrebu (ing. D. Hamel-Koren) na ustupljenom uzorku.

Slika 1. TS-kromatogram metanolnog ekstrakta soje i pojedinih saponinskih frakcija dobivenih nakon višekratnog odjeljivanja na stupcu SiO_2



F ($R_f = 0,98$)
E ($R_f = 0,95$)
D ($R_f = 0,89$)
C ($R_f = 0,73$)
B ($R_f = 0,51$)
A ($R_f = 0,27$)

Sistem otapala: Kloroform-metanol-voda (6,5:3,5:1,0)

Reagens za detekciju: klorsulfonska kiselina

T = metanolni ekstrakt soje dobiven perkolacijom

I = saponinska smjesa supstancija »E« ($R_f = 0,95$) i F ($R_f = 0,98$)

II = jedinstvena saponinska supstancija »C« ($R_f = 0,73$)

III = jedinstvena saponinska supstancija »B« ($R_f = 0,51$)

supstancije odjeljivane su višekratno na stupcu SiO_2 uz sistem otapala kloroform-metanol-voda 6,5:3,5:1,0 (6). Dobivena je saponinska smjesa od dvije supstancije (»B« i »F«) i dvije kromatografski jedinstvene supstancije (»B« i »C«), koje pokazuju izrazito hemolitičko djelovanje (sl. 1).

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti izoliranih saponinskih supstancija

Izolirane saponinske supstancije ispitane su s obzirom na antimikrobnu aktivnost. Od izoliranih supstancija ispitane su saponinske supstancije »B«, »C« i smjesa supstancija »E« i »F«. Ispitivanja su izvedena metodom difuzije na krutoj hranjivoj podlozi (5,7). Za ispitivanje su upotrijebljeni ovi mikroorganizmi: *Candida monosa* (osjetljiva na nistatin), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 23382, *Streptococcus faecalis* 8043 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Bacillus subtilis* 8236 i *Escherichia coli* ATCC 10536. Rezultati ispitivanja iznijeti su u tablici 1.

REZULTATI I DISKUSIJA

Nazočnost saponina utvrđena je TS-kromatografijom (6). Na ploči su uočene četiri crvenoljubičaste mrlje, koje bi prema obojenju klorsulfonskom kiselinom odgovarale saponinskim supstancijama. To su supstancije »B« ($R_f = 0,51$), »C« ($R_f = 0,73$), »E« ($R_f = 0,95$) i »F« ($R_f = 0,98$) (sl. 1).

Metanolni ekstrakt soje propušten je preko sephadexa G-25 u svrhu dobivanja saponinske frakcije. Odvajanjem saponinske frakcije na stupcu SiO_2 izolirane su dvije kromatografski jedinstvene supstancije »B« ($R_f = 0,95$), »C« ($R_f = 0,73$) i jedna smjesa supstancija »E« ($R_f = 0,95$) i »F« ($R_f = 0,98$) (sl. 1). Izolirane jedinstvene supstancije »B« i »C« kao i smjesa supstancija »E« i »F« pokazuju izrazitu hemolitičku aktivnost dobivenu ispitivanjem na krvnoj želatini i »in vitro«, u epruveti.

Izolirane supstancije »B«, »C« i smjesa supstancija »E« i »F« podvrgnute su ispitivanju antimikrobnog učinka. Rezultati ispitivanja iznijeti su u tablici 1.

Tablica 1. Zone inhibicije (mm x 10) izoliranih saponinskih supstancija biljke Glycine hispida (Mch.) Max = Soja hispida Mch.

Vrsta mikroorganizama	Supstanc. »B«				Supstanc. »C«				Supstanc. »E« i »F«				EtOH
	S_1	S_2	S_3	S_4	S_1	S_2	S_3	S_4	S_1	S_2	S_3	S_4	
Candida monosa (osjetljiva na nistatin)	0	0	170	250	0	0	170	270	0	0	170	210	265
Pseudomonas aeruginosa ATCC 23382	0	0	160	170	0	0	150	165	0	0	0	155	165
Streptococcus faecalis 8043	0	0	0	145	0	0	0	150	0	0	150	170	145
Staphylococcus aureus ATCC 6538-P	0	0	0	145	175	180	200	220	0	0	165	185	145
Klebsiella pneumoniae ATCC 10031	0	0	0	165	0	0	150	195	0	0	155	195	155
Bacillus subtilis 8236	0	0	155	185	0	0	220	260	0	0	155	180	195
Escherichia coli ATCC 10536	0	0	140	170	0	0	140	170	0	0	0	140	155

Supstancija »B« (0,0446 g/6 ml EtOH) = S_4
Supstancija »C« (0,0754 g/6 ml EtOH) = S_4
Supstancija »E« i »F« (0,0795 g/6 ml EtOH) = S_4

Razrjeđenja: $S_3 = 3 \text{ ml } S_4 + 3 \text{ ml pufer-otopine}$
 $S_2 = 3 \text{ ml } S_3 + 3 \text{ ml pufer-otopine}$
 $S_1 = 3 \text{ ml } S_2 + 3 \text{ ml pufer-otopine}$

Ispitivanje je izvršeno modificiranim mikrobiološkom metodom (5,7) difuzije na krutoj hranjivoj podlozi postupkom bušenja rupa. U rupe su nanošeni otopljeni uzorci (po 0,3 ml), a ploče su inkubirane tijekom 17 sati na 35°C nakon čega su očitavane zone inhibicija mikroorganizama.

Saponin »B« pokazao je pozitivan antimikrobni učinak na mikroorganizme *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 i *Escherichia coli* ATCC 10336, a saponin »C« također na ove mikroorganizme, ali još i na mikroorganizme *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P i *Bacillus-subtilis* 8236.

Saponinska smjesa supstancija »E« i »F« pokazala je pozitivan antimikrobni učinak na mikroorganizme *Streptococcus faecalis* 8043, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P i *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 (tablica 1).

(Zavod za farmakognoziju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb i Zavod za ispitivanje i kontrolu lijekova RH, Zagreb).

Literatura — References

- (1) F. Kušan: Ljekovito i drugo korisno bilje, Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb 1956, 308.
- (2) Su et al., Journal of economic entomology, Washington 65, 845 (1972).
- (3) G. Bader, K. Miller, Die Pharmazie 42, 210, 338 (1972).
- (4) W. Karrer: Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart 1958, 802.
- (5) Ph. Jug. IV, Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd 1984, Vol. 1, 8–020, 9–100.
- (6) T. Kawasaki i K. Mihara, Chem. Pharm. Bull. Tokio 11, 1546 (1963).
- (7) M. Kupinić, Arh. farm. 29, 411 (1979).