

УДК 615.32: 547.9

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ЖЕНЬШЕНЯ**Акушская А.С.***ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Самара, e-mail: akushskaya.as@gmail.com*

В настоящей статье обсуждаются результаты фитохимического исследования надземной части женьшеня настоящего (*Panax ginseng* C.A. Meyer). С использованием хроматографических методов – адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии, тонкослойной хроматографии, а также методов перекристаллизации из травы женьшеня выделено индивидуальное вещество флавоноидной природы, предварительно идентифицированное как 3-О-доксилозид 3,5,7,4'-тетрагидроксифлавона (кемпферол-3-О-доксилозид). Разработаны методики количественного определения суммы сапонинов в надземной части в пересчете на гинзенозид R_g и суммы флавоноидов в пересчете на рутин с использованием метода спектрофотометрии. Содержание суммы сапонинов составляет 4,30 и 1,30% в листьях и стеблях соответственно. Содержание суммы флавоноидов составляет 1,20 и 0,50% в листьях и стеблях соответственно. Метрологические характеристики методик свидетельствуют об их достоверности и воспроизводимости.

Ключевые слова: женьшень настоящий, *Panax ginseng* C.A. Meyer, флавоноиды, хроматография, спектрофотометрия

CHEMICAL COMPOSITION OF AERIAL PARTS OF GINSENG**Akushskaya A.S.***Samara State Medical University, Samara, e-mail: akushskaya.as@gmail.com*

In the present paper are discussed the results of phytochemical study of aerial parts of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). There was developed individual substance from ginseng herb by the using of different chromatographic methods (liquid column chromatography, thin layer chromatography) and recrystallization, that was previously identified as 3-O-dixyloside 3,5,7,4'-tetrahydroxyflavon (kaempferol-3-O-dixyloside). The methods of the quantitative estimation of the total saponins (calculated on ginsenoside R_g) and total flavonoids (calculated on rutin) in the herb of *Panax ginseng* C.A. Meyer by the using of the spectrophotometry were developed. The contents of the total saponins are 4,30 and 1,30% in the leaves and stems, respectively. The contents of the total flavonoids are 1,20 and 0,50% in the leaves and stems respectively. Analytical target profile indicates accuracy and repeatability of the methods.

Keywords: *Panax ginseng* C.A. Meyer, flavonoids, chromatography, spectrophotometry

Корни женьшеня настоящего (*Panax ginseng* C.A. Meyer.) широко используются в медицинской практике как общетонизирующие и адаптогенные средства. В РФ сырье используется преимущественно для получения настойки, за рубежом – для производства эликсиров, таблеток, комбинированных витаминных препаратов [2, 4, 7].

В РФ осуществляется промышленное культивирование женьшеня как в европейской части страны (Самарская, Брянская, Тверская области), так и на Дальнем Востоке (Приморский край). При сборе корней остается значительная фитомасса надземной части растения. Существуют научные данные о противогипоксическом, актопротекторном, термопротекторном, стресспротекторном и адаптогенном действии извлечений из травы женьшеня [1, 5, 6]. Поэтому с точки зрения ресурсосберегающих технологий актуальным и перспективным является изучение листьев и стеблей женьшеня, сравнение их химического состава с активными компонентами корней и оценка биологической активности.

Целью настоящего исследования являлась оценка качественного и количественного состава сапонинов и флавоноидов в надземной части женьшеня.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили стебли и листья женьшеня настоящего, культивируемого в Самарской области (КФК «Питомник «Женьшень», г. Жигулевск). Сбор растительного материала осуществляли в июне-сентябре 2011–2012 гг. и подвергали сушке в хорошо проветриваемом помещении без доступа прямых солнечных лучей.

В ходе работы применялись такие методы исследования, как тонкослойная хроматография (ТСХ), бумажная и адсорбционная жидкостная колоночная хроматография, кристаллизация и перекристаллизация, УФ-, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия, кислотный и ферментативный гидролиз, а также статистические методы обработки данных. Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре Kratos MS-30 (UK), ЯМР-спектры записывали на приборе Bruker AM300. УФ-спектры получали на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena).

Результаты исследования и их обсуждение

Методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии с использованием различных сорбентов (силикагель L 40/100 и полиамид) и путем последующей перекристаллизации из надземной части женьшеня выделено вещество, которое по физико-химическим константам, данным УФ-, ЯМР- и масс-спектрам предваритель-

но охарактеризовано как 3-О-дксилозид 3,5,7,4' – тетрагидроксифлавона (кемпферол-3-О-дксилозид) (рис. 1).

В гликозидной хроматографической системе н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (БУВ) в соотношении 4:1:2 вещество имеет хроматографическую подвижность с $R_f \sim 0,5$ и проявляется в виде ярко-желтого пятна 3% раствором алюминия хлорида (рис. 2) и в виде оранжевого пятна – раство-

ром диазобензолсульфо кислоты в насыщенном растворе натрия карбоната. При перекристаллизации выпадает из спирта в ацетон в виде мелкодисперсного порошка светло-желтого цвета. Спектр выделенного вещества в УФ-области имеет максимумы поглощения при 271 ± 2 и 355 ± 2 нм. УФ-спектры комплексов вещества с алюминия хлоридом натрия ацетатом, а также дифференциальный спектр представлены на рис. 3 и 4.

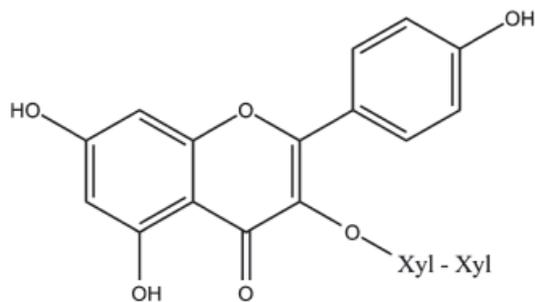


Рис. 1. Формула и ^1H -ЯМР-спектр кемпферол-3-О-дксилозида

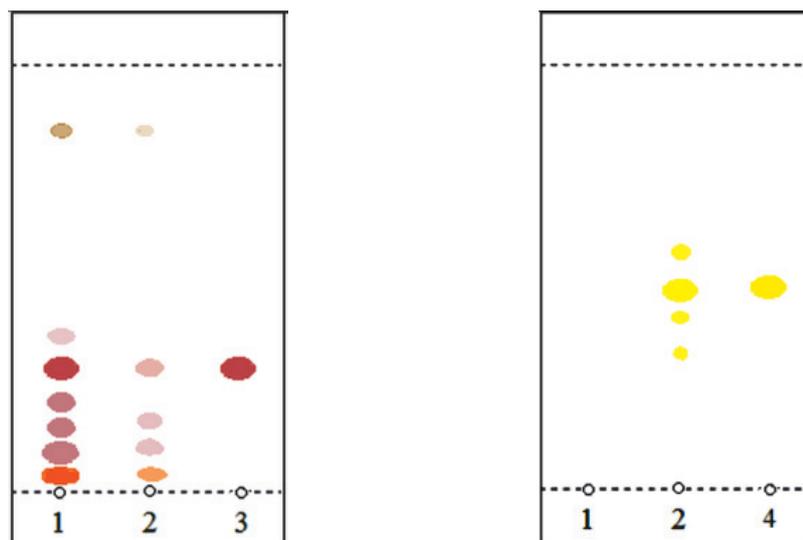
3-О-дксилозид кемпферола
Желтое кристаллическое вещество состава



Масс-спектр (m/z): 286 (M^+ агликона).

УФ-спектр: λ_{max} 271, 355 нм.

^1H -ЯМР-спектр в DMSO-d_6 , 300 МГц (δ , м.д.): 12,67 (с, 1H, 5-OH), (д, 9 Гц, 2H, H-2¹, 6¹), 6,86 (д, 9 Гц, 2H, H-3¹, 5¹), 6,43 (д, 2 Гц, 1H, H-8), 6,19 (д, 2 Гц, 1H, H-6), 5,68 (д, 7 Гц, 1H, H-1¹¹ ксилозы), 4,53 (1H, H-1¹¹¹ ксилозы), 3,0–4,95 дксилозид (м, 10H двух молекул ксилозы).



20% спиртовой раствор ФВК

Реактивы:

3% спиртовой раствор AlCl_3

Рис. 2. Схема ТСХ в системе БУВ (4:1:2):

1 – извлечение из корней женьшеня (70% этанол); 2 – извлечение из надземной части женьшеня (70% этанол); 3 – рабочий стандартный образец (PCO) гинзенозида Rg_1 ; 4 – доминирующий флавоноид женьшеня

Методом дифференциальной УФ-спектрофотометрии определено содержание суммы флавоноидов в листьях и стеблях женьшеня, а также суммарно в траве женьшеня в пересчете на государственный стандартный образец (ГСО) рутин (рис. 5, табл. 1).

Для количественной оценки суммы сапонинов в надземной части женьшеня адаптирована разработанная ранее мето-

дика определения суммы сапонинов в корнях женьшеня [3], предусматривающая использование рабочего стандартного образца (PCO) гинзенозида Rg_1 или удельного показателя поглощения комплекса гинзенозида с 70% серной кислотой (25). Методика модифицирована путем введения стадии очистки извлечения из травы женьшеня от хлорофилла и других липофильных веществ, легко окисляющихся серной

кислотой, путем экстракции нативного извлечения хлороформом. Содержание суммы сапонинов в стеблях и листьях женьшеня, определенное с помощью данной методики, представлено в табл. 1.

Метрологические характеристики методик количественного определения суммы сапонинов и суммы флавоноидов в надземной части женьшеня представлены в табл. 2 и 3 соответственно.

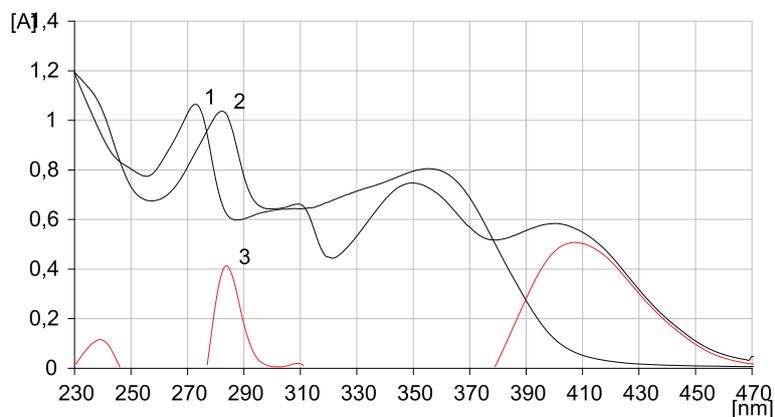


Рис. 3. Спектры поглощения раствора флавоноида: 1 – исходного раствора; 2 – после добавления алюминия хлорида; 3 – дифференциальный спектр исходного раствора на фоне комплекса с алюминия хлоридом

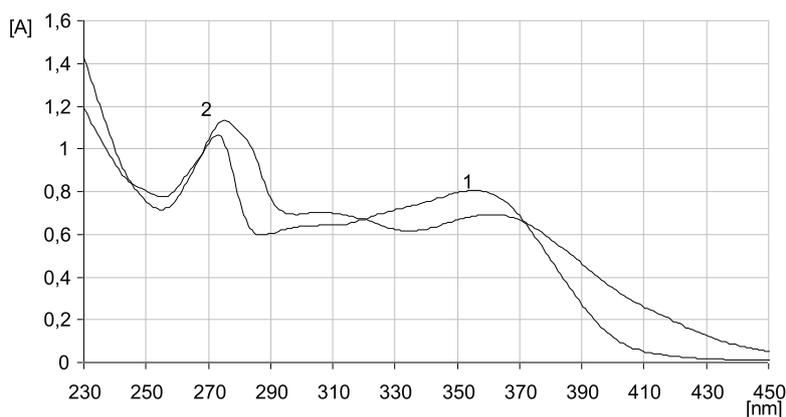


Рис. 4. Спектры поглощения раствора флавоноида: 1 – исходного раствора; 2 – после добавления ацетата натрия

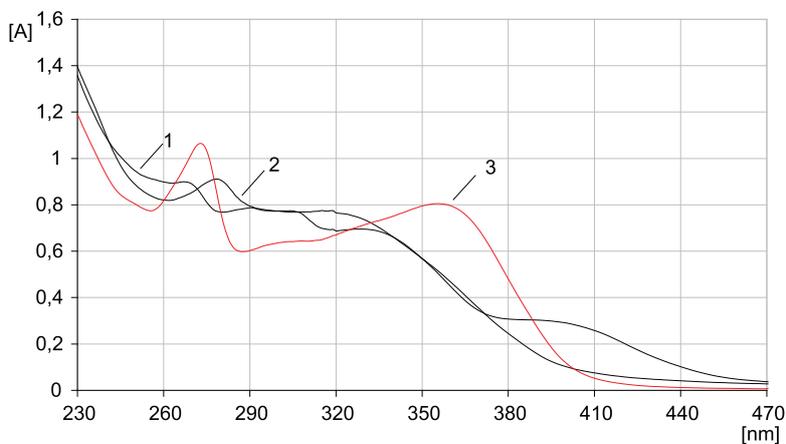


Рис. 5. Спектры поглощения извлечения из надземной части женьшеня: 1 – исходного раствора (разведения 1:50); 2 – после добавления комплексообразователя алюминия хлорида; 3 – флавоноида, выделенного из травы женьшеня

Таблица 1

Содержание различных групп биологически активных веществ (БАВ) в частях растения, %

Сырье	Группа БАС	Сапонины (в пересчете на РСО гинзенозида Rg ₁)	Флавоноиды (в пересчете на ГСО рутин)
Корни		6,11 ± 0,272	—
Листья		4,30 ± 0,078	1,20 ± 0,053
Стебли		1,30 ± 0,066	0,50 ± 0,032
Надземная часть (трава)		3,10 ± 0,125	0,90 ± 0,029

Таблица 2

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы сапонинов в надземной части женьшеня

<i>n</i>	<i>f</i>	\bar{X}	<i>S</i>	<i>S</i> ²	<i>P</i> , %	<i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>)	ΔX	<i>E</i> , %
7	6	3,10	0,0510	0,0026	95	2,45	± 0,125	± 4,48

Таблица 3

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в надземной части женьшеня

<i>n</i>	<i>f</i>	\bar{X}	<i>S</i>	<i>S</i> ²	<i>P</i> , %	<i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>)	ΔX	<i>E</i> , %
7	6	0,90	0,0118	0,00014	95	2,45	± 0,029	± 3,21

Выводы

1. Из надземной части женьшеня настоящего выделено вещество флавоноидной природы и установлены его спектральные и хроматографические свойства, позволяющие предварительно идентифицировать флавоноид как 3-О-дигенин кемпферола.

2. Разработана методика количественного определения суммы сапонинов в надземной части женьшеня в пересчете на РСО гинзенозид Rg₁.

3. Разработана методика оценки количественного содержания флавоноидов в надземной части женьшеня в пересчете на ГСО рутин.

4. С помощью разработанных методик получены данные о количественном содержании суммы сапонинов и суммы флавоноидов в надземной части женьшеня. Статистическая обработка данных позволяет сделать вывод о том, что ошибки единичных определений составляет ± 4,48 и ± 3,21 % соответственно.

Список литературы

- Бржихнач Б., Шаповалов В.К., Севрюк Н.И. К фармакогностической характеристике листьев *Panax ginseng* C.A. Meyer // Растительные ресурсы. – 1982. – Т. 18. – № 3. – С. 357–363.
- Государственный реестр лекарственных средств. – Т. 1. Официальное издание. – М.: Ремедиум, 2008. – 1398 с.
- Куркин В.А., Акушская А.С. Определение сапонинов в корнях женьшеня // Фармация. – 2012. – Т. 60. – № 3. – С. 18–20.
- Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: Офорт; СамГМУ, 2007. – 1239 с.
- Легостева А.Б. Фитохимическое изучение листьев женьшеня, получение и анализ препаратов, содержащих панаксозиды: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Л., 1989. – 26 с.
- Способ приготовления и фармакологические свойства настойки из листьев женьшеня / С.А. Минина, А.Б. Легостева, Н.Б. Сыроежко, Е.Е. Лесновская, Н.Ю. Фролова, М.А. Буракова, Н.Е. Тушина // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Т. 34. – № 9. – С. 31–33.

7. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae – Apiaceae / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 601 с.

References

- Brgihnach B., Shapovalov V.K., Sevryuk N.I. *K pharmacognosticheskoy kharakteristike list'ev Panax ginseng* C.A. Meyer. *Plant resources*, 1982, Vol. 18, no. 3, pp. 357–363.
- Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv. T. 1. Oficial'noe izdanie* [State Register of medicinal remedies. Vol. 1. Official edition]. Moscow, Remedium, 2008, p. 1398.
- Kurkin V.A., Akushskaya A.S. *Opredelenie saponinov v kornyakh ginschenya*. *Pharmacy*, 2012, Vol. 60, no. 3, pp. 18–20.
- Kurkin V.A. *Pharmacognosiya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov (fakul'tetov)* [Pharmacognosy: textbook for students of pharmaceutical universities]. 2-e izd., pererab. i dop. Samara, OOO «Ofort», GOU VPO «SamGMU Roszdava», 2007, 1239 p.
- Legosteva A.B. *Phitokhemicheskoe isuchenie list'ev ginschenya, poluchenie i analiz preparatov, sodergaschih panaxozidy: Avtoref. diss. kand. pharm. nauk. St.-P.*, 1989, 26 p.
- Minina S., Legosteva B., Sirovegko N., Lesiovskaya E., Frolova N., Burakova M., Tushina N. *Sposob prigotovleniya i farmacologicheskie svoystva nastoiki iz list'ev ginschenya*. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 2000, no. 9, pp. 31–33.
- Rastitel'nie resursy Rossii: Dikorastushchie rasteniya, ih komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost. T. 3. Semeystva Fabaceae – Apiaceae* [Russian plant resources: wild plants, its components and biological activity. Vol. 3. Families Fabaceae – Apiaceae]. *Otv. red. St.-P., Moscow, 2010, 601 p.*

Рецензенты:

Первушкин С.В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Самара;

Авдеева Е.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Самара.

Работа поступила в редакцию 01.07.2013.