

О.В. Евдокимова

СОДЕРЖАНИЕ ГЕНЗИНОЗИДОВ КУЛЬТИВИРУЕМОГО ЖЕНЬШЕНЯ И УСТАНОВЛЕНИЕ ДИАПАЗОНОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ЕГО ЭКСТРАКТОВ

В статье приводятся результаты качественного и количественного анализа гензинозидов корня женьшеня, культивируемого в нечерноземной зоне РФ, и его шротов, а также сиропов с использованием женьшеневого экстракта. С применением метода компьютерной морфометрии регенерации планарий исследованы уровни функциональности с учетом концентрации растворов экстрактов корня женьшеня.

Экстракты корня женьшеня из-за малого содержания сухих веществ не могут относиться к функциональному продукту, хотя и обладают рядом функциональных свойств благодаря высокому содержанию биологически и физиологически активных веществ. Научная новизна работы заключается в установлении диапазонов и уровней функциональности экстрактов, при которых они проявляют функциональные свойства.

Корень женьшеня, гензинозиды, хроматографирование, спектрофотометрический метод, диапазон функциональности, регенерация, планарии.

Введение

Женьшень – легендарное уникальное растение, лечебные свойства которого использовались издревле. Многовековая история исцеления корнем женьшеня уходит в века; считается, что в Китае использовали женьшень в лечебных целях еще 3000 лет назад. Достоверные упоминания применения женьшеня содержатся в медицинских трактатах начиная с IV в. до н.э.

Корень женьшеня настоящего – это многолетнее травянистое растение семейства аралиевых (*Panax ginseng* С.А. Meyer). Культивируется в отдельных регионах России, так как природные запасы дикого женьшеня (Приморье, юг Хабаровского края) очень ограниченные.

Функциональные свойства корня женьшеня связаны с наличием комплекса гликозидов – сапонинов, которые называют гензинозидами. Достаточно полно изучен химический состав различных видов женьшеня [1]. Содержание гензинозидов в растениях различно и составляет от 1 до 6 % (в сухом корне) [2]. Отдельные части корня женьшеня не отличаются набором индивидуальных гензинозидов, но различны по их сумме. Максимальное накопление отмечено в кожуре и боковых корнях, минимальное – в основном корне. Также отмечено различное содержание гензинозидов в корнях женьшеня, произрастающего в разных районах, причем основное различие заключается в количественном содержании индивидуальных гликозидов, а также суммарном содержании гензинозидов, которое колеблется от 12,4 до 29,8 мг/г в отдельных районах сбора [3].

Доказано, что гензинозид является возбудителем центральной нервной системы, синергистом кофеина и антагонистом алкоголя. Считают, что физиологически активные вещества корня женьшеня усиливают процессы возбуждения и ослабляют процессы торможения в коре головного мозга.

Исследованиями отечественных и зарубежных ученых в области функциональных свойств женьшеня доказано, что женьшень возбуждает центральную нервную систему [4], повышает умственную и

физическую работоспособность [5], обладает адаптогенными свойствами, повышая основной обмен, проявляет антиоксидантные свойства, оказывает противоопухолевое действие [6]. Установлено, что экстракты корейского, китайского и американского женьшеня ингибируют рост опухолевых клеток [7]. Вместе с тем отсутствуют данные о составе гензинозидов женьшеня, культивируемого в нечерноземной зоне РФ. Кроме того, нет сведений о том, в каких концентрациях настои женьшеня проявляют функциональные свойства.

Разработаны препараты из биомассы биотехнологического женьшеня, изучены его физико-химические и биологические свойства [8]. Доказаны антиканцерогенные и противоопухолевые свойства препаратов [9]. На основе биомассы культуры ткани женьшеня разработаны таблетки [10]. С использованием экспериментально-клинических исследований доказано, что настойка биомассы культуры ткани женьшеня повышает иммунорезистентность организма [11, 12], положительно влияет на нейроэндокринную систему [13]. Биомасса женьшеня отличается значительными объемами и скоростью воспроизводства по сравнению с женьшенем, культивируемым на специальных плантациях, однако в ней отмечено пониженное содержание гликозидов – гензинозидов, являющихся основным действующим веществом данного растительного сырья.

Цели работы:

- качественный анализ и количественное определение суммы гензинозидов в продуктах корня женьшеня, культивируемого в Орловской области;
- установление диапазонов и уровней функциональности экстрактов корня женьшеня в зависимости от разведения.

Объекты исследования: сушеный корень женьшеня четырех-, пяти- и шестилетнего возраста; шроты корня женьшеня, полученные после водного экстрагирования сушеного корня, и сироп плодово-женьшеневый, полученный на основе плодово-ягодного сока прямого отжима и экстракта корня женьшеня.

Методы исследования

Качественный анализ проводили по методике ГФ (XI издание, т. 2, частная статья «Корни женьшеня»). Сушеные продукты (корень и шрот корня женьшеня) измельчали до порошкообразного состояния, наносили на порошок каплю концентрированной серной кислоты, которая через 1–2 мин проявляла кирпично-красное окрашивание, переходящее в красно-фиолетовое, свидетельствующее о наличии генизинозидов. Второй стадией качественного анализа явилось хроматографирование фильтрата с использованием пластинки «Силуфоя» и Sorbfil-УФ. Система растворителей включала: хлороформ – метиловый спирт – вода (61:32:7) при насыщении камеры 2 часа. Пластинки «Силуфоя» опрыскивали 20%-ным спиртовым раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты и нагревали в сушильном шкафу при 100–110 °С в течение 10 минут. На хроматограмме проявлены пятна розового цвета с R_f от 0,2 до 0,7 (генизинозиды). Пластинки Sorbfil-УФ для проявления хроматограмм опрыскивали 5%-ным спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты.

Как показали результаты исследований, на хроматограммах четко были видны пятна фильтрата корня женьшеня с R_f 0,26; R_f 0,38; R_f 0,45; R_f 0,5, такие же пятна наблюдались при исследовании фильтрата из шрота корня женьшеня, на хроматограмме фильтрата из плодово-женьшеневого сиропа выделены только два пятна с R_f 0,38 и R_f 0,52.

Количественное определение. Сумму генизинозидов определяли спектрофотометрическим методом фосфорно-молибденовой кислотой при длине волны 700 нм после проведения цветной реакции. Методика определения включала: измельчение сырья, прибавление к навеске (1,0 г) 30 мл 30 % спирта этилового, нагревание колбы с обратным холодильником на водяной бане (30 мин), процеживание вытяжки, экстрагирование фильтрующего материала, приготовление раствора экстракта, этилового спирта и фосфорно-молибденовой кислоты и определение его оптической плотности на спектрофотометре марки СФ-46 в кюветках с толщиной рабочего слоя 10 мм.

Результаты и их обсуждение

Результаты количественного определения суммы генизинозидов в образцах сырья корня женьшеня и сиропе плодово-женьшеневом (табл. 1) показали:

– в сушеном корне женьшеня 4-летнем содержание генизинозидов меньше на 11,2 %, чем в корнях 5- и 6-летних;

– в сушеном шроте корня женьшеня 4-летнем генизинозидов содержится на 2,8 % меньше, чем в шротах 5- и 6-летних корня женьшеня;

– сироп апельсиново-женьшеневый содержит генизинозидов меньше по сравнению с экстрактами корня женьшеня в 76 раз за счет незначительного количества экстракта в рецептуре сиропа.

Результаты количественного определения суммы генизинозидов в образцах сырья корня женьшеня и сиропе плодово-женьшеневом, % на сухое вещество

Продукты корня женьшеня	Возраст корня женьшеня, годы		
	4	5	6
Сушеный корень женьшеня	2,85	3,21	3,20
Сушеный шрот корня женьшеня	0,070	0,072	0,072
Сироп апельсиново-женьшеневый	0,039	0,041	0,040

В рекомендациях по применению отдельных препаратов в медицинских целях приводятся рекомендуемые нормы. Как правило, препараты проходят медико-биологические и клинические испытания.

Экстракты, настои, отвары из-за низкого содержания массовой доли сухих веществ не могут содержать физиологически функциональные пищевые ингредиенты в количестве от 10 до 50 % от суточной нормы потребления, поэтому согласно ГОСТ Р 52349-2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения» не могут относиться к ФПП. Вместе с тем они обладают эффективными лечебно-профилактическими свойствами благодаря комплексу биологически и физиологически активных веществ.

Исследуемые нами экстракты используются при производстве функциональных сиропов. В изученной нами литературе отсутствует однозначный ответ, в каких количествах потребляемые экстракты обладают функциональными свойствами.

Поэтому представляет интерес определение той концентрации экстрактов, при которой начинают проявляться функциональные свойства, то есть, условно говоря, необходимо определить «диапазон функциональности». С этой целью мы изучили теоретически, освоили практически и провели эксперимент по определению регенерирующей способности планарий в экстрактах корня женьшеня. Работа проводилась в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

Для установления диапазонов и уровня функциональности экстрактов корня женьшеня был использован метод изучения пролиферативной активности лекарственных средств с использованием компьютерной морфометрии регенерации планарий, который является косвенным и основан на измерении отрастания регенерирующей головной части тела после декапитации (бластемы) [14, 15].

Работа выполнена на планариях *Girardia tigrina* (Platyhelminthes, Triclada), бесполой лабораторной расе плоских червей. Планарий содержали в прудовой воде при комнатной температуре и кормили раз в неделю личинками двукрылых. Для экспериментов отбирали животных длиной около 10 мм и прекращали их кормление за 7 дней до опытов. Регенерация вызывалась ампутацией 1/5 части тела планарий, содержащей головной ганглий, в области непо-

средственно под «ушами». Регенерирующие планарии помещались в стеклянные стаканы (по 30 особей на стакан), содержащие по 20 мл смеси дистиллированной и водопроводной воды.

В качестве экспериментальных растворов использовали экстракты сушеного корня женьшеня культивируемого в различных разведениях. Эксперименты в каждой серии повторялись не менее трех раз. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Sigma-Plot 2.01.

Для получения стандартных изображений регенерирующих планарий использовали экспериментальную установку, включающую видеокамеру, биноклярный микроскоп, состыкованные с помощью видеогрabbера. Этот видеокomпьютерный комплекс для получения и анализа изображений позволяет изучать любые геометрические характеристики тела планарий.

С помощью специального пакета программ Plana 4.4 определялась общая площадь тела животного и площадь бластемы.

В качестве количественного критерия роста использован индекс регенерации $R = s/S$, где s – площадь бластемы; S – площадь всего тела регенеранта в данный момент времени. Каждое из измеряемых значений R как в опыте, так и в контроле является результатом усреднения измерений на 30 животных. Изменение индекса регенерации в эксперименте по сравнению с контролем определялось по формуле

$$\Delta R = \frac{(R_{\text{Э}} - R_{\text{К}}) \pm (\delta_{\text{Э}} + \delta_{\text{К}})}{R_{\text{К}}} 100\% \quad (1)$$

где, ΔR – разница (%) между величинами индекса регенерации в экспериментальных $R_{\text{Э}}$ и контрольных $R_{\text{К}}$ образцах; $\delta_{\text{Э,К}}$ – стандартные ошибки измерений в опыте и контроле. Ошибка в определении R в каждой выборке не превышала 5 %.

В первой серии экспериментов производилась оценка общей токсичности исследуемых экстрактов. Для этого декаптитированных планарий помещали в среду, содержащую экстракты корня женьшеня в разведении 1:5, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000. После суточной инкубации во всех растворах экстракта корня женьшеня, кроме разведения 1:10 000, наблюдалась гибель планарий.

В следующей серии экспериментов рабочую концентрацию экстракта корня женьшеня уменьшали в 10 раз (разведение 1:100 000) и в 100 раз (разведение 1:1000 000). В серии разведений исследуе-

мых препаратов наблюдалось достоверное стимулирование регенерации планарий.

Исходя из результатов эксперимента можно заключить:

- экстракты из лекарственно-технического сырья из-за высокого содержания биологически и физиологически активных веществ губительны для планарий;
- регенерирующая способность планарий зависит от концентрации экстрактов; так, экстракты корня женьшеня в высоких разведениях (диапазоны от 1:5 до 1:10 000) токсичны для планарий. При больших разведениях экстрактов происходило стимулирование регенерации планарий. Следовательно, при указанных диапазонах экстракты проявляют функциональные свойства.

Таким образом, биологический эффект действия исследуемых экстрактов связан с содержанием в экстрактах биологически и физиологически активных веществ.

Широкие «диапазоны функциональности» вызывают необходимость градации функциональных свойств, чтобы при разработке функциональных продуктов питания и проектировании рецептур можно было оценить уровень функциональности готовой продукции.

С учетом методики проводимого эксперимента нами выделено пять уровней, соответствующих пяти разведениям экстрактов. При разработке уровней функциональности учитывали первоначальную концентрацию экстрактов (1:10) и следующие разведения экстрактов – 1:5, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, в результате получили растворы экстрактов с концентрацией 1:50, 1:100, 1:1000, 1:10 000 и 1:100 000. Уровни функциональности с учетом концентрации растворов экстрактов распределили следующим образом:

- I уровень – очень высокий (до 1:50);
- II уровень – высокий (от 1:51 до 1:100);
- III уровень – средний (от 1:101 до 1:1000);
- IV уровень – умеренный (от 1:1001 до 1:10 000);
- V уровень – низкий (от 1:10 001 до 1:100 000).

Шкала уровней функциональности исследуемых экстрактов может служить для определения уровней функциональности разработанных пищевых продуктов с использованием экстрактов лекарственно-технического сырья. Так, например, в разработанных нами плодово-женьшеневых сиропах за счет использования экстракта корня женьшеня его концентрация в сиропе составляет 1:20, что относит его к I (очень высокому) уровню функциональности.

Список литературы

1. Tanaka O., Kasai R. Saponins of Ginseng and Related Plants // Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. – 1984. – V. 46. – P. 1–42.
2. Elyakov G.B., Strigina L.I., Uvarova N.L., Vaskovsky V.E., Dzizenko A.K., Kochetkov N.K. Glycosides from Ginseng Roots // Tetrahedron Lett. – 1964. – № 48. – P. 3591–3597.
3. Маханьков, В.В. Анализ нейтральных гинзенозидов диких и плантационных корней Panax Ginseng, произрастающих в Приморье / В.В. Маханьков, Н.Ф. Самошина, Н.И. Уварова, Г.Б. Еляков // Химия природн. соедин. – 1993. – № 2. – С. 237–242.
4. Буркат, М.Е. Материалы к фармакологической характеристике корня женьшеня / М.Е. Буркат, П. Саксонов // Фармакол. и токсикол. – 1947. – № 2. – С. 7–15.
5. Вязьменский, Э.С. О химическом составе и фармакологическом действии корня женьшеня // Фармакол. и токсикол. – 1947. – № 3.
6. Бутурлин, В.В. О применении корня женьшеня в клинической практике // Сов. мед. – 1950. – № 5. – С. 34–36.

7. Lee H.Y., Kim S.I., Lee S.K. et al. Differentiation mechanism of ginsenosides in cultured murine Fg teratocarcinoma stem cells. / Proceed. 6th intern. Ginseng Symp., Seoul Korea. – 1993. – P. 127–131.
8. Александрова, И.В. Физико-химические и биологические свойства препаратов биотехнологического женьшеня / И.В. Александрова, В.Б. Амирханьян, Л.Г. Артемова и др. // Оценка фармакологической активности химических соединений: принципы и подходы: тез. докл. всесоюз. науч. конф. – М., 1999. – Ч. 1. – С. 5.
9. Беспалов, В.Г. Антиканцерогенные и противоопухолевые свойства препаратов из биомассы Panax ginseng С.А. Мей и его германийселективных штаммов / В.Г. Беспалов, А.Ю. Лимаренко, В.В. Давыдов // Раст. ресурсы. – 1993. – Т. 29. – Вып. 4. – С. 1–13.
10. Высоцкая, Р.И. Таблетки из биомассы культуры ткани женьшеня / Р.И. Высоцкая, А.С. Ефимова, Л.И. Слепян, А.Л. Бриль // Фармация. – 1982. – № 3. – С. 31–34.
11. Крендаль, Ф.П. Фармакологическое исследование адаптогенного (резистогенного) действия настойки из биомассы культуры ткани корня женьшеня / Ф.П. Крендаль, Л.В. Левина, В.Н. Чубарев, И.К. Соколов, А.Н. Кудрин // Новые данные об элеутерококке и других адаптогенах: сб. – Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1981. – С. 23–130.
12. Давыдова, О.Н. Влияние элеутерококка и настойки биомассы культуры ткани женьшеня на иммунорезистентность организма: экспериментально-клиническое исследование / О.Н. Давыдова, Ф.П. Крендаль, А.А. Майдыков и др. // Актуальные проблемы современной фармации. – М., 1986. – С. 135–136.
13. Давыдов, В.В. О влиянии препаратов культуры тканей женьшеня на нейроэндокринную систему в норме и при стрессе / В.В. Давыдов, Г. Полосова, А.С. Фокин // Нов. лекар. преп. из растений Сибири и Дальнего Востока: тез. докл. всесоюз. науч. конф. – Томск, 1989. – Вып. 2. – С. 52–53.
14. Рожнов, Г.И. Разработка альтернативных методов оценки токсичности химических веществ на основе биотестирования / Г.И. Рожнов, В.А. Проינוва, А.В. Лиманцев, Х.П. Тирас и др. // Токсикологический вестник. – 1995. – № 6. – С. 27–29.
15. Тирас, Х.П. Прижизненная морфометрия регенерации планарий / Х.П. Тирас, Н.Ю. Сахарова // Онтогенез. – 1984. – Т. 15. – № 1. – С. 41–48.

ФГОУ ВПО «Госуниверситет – УНПК»,
302020, Россия, г. Орел, Наугорское шоссе, 29.
Тел.: (4862) 42-00-24
e-mail: unpk@ostu.ru

SUMMARY

O.V. Evdokimova

Ginsenosides content of cultivated ginseng and ranges of its extracts functionality

The results of the qualitative and quantitative analysis of ginsenosides in the roots of ginseng cultivated in a non-chernozem zone of the Russian Federation in its meal and syrups containing ginseng extract are given. The levels of functionality have been investigated taking into account liquid extract concentration of ginseng root. The method of a computer morphometry of planariy regeneration was used.

Ginseng root extracts can't be considered functional foods because of a low content of solids though they possess a number of functional properties due to a high content of biologically and physiologically active substances. Scientific novelty of the research is the establishment of ranges and levels of extract functionality at which the extracts exhibit functional properties.

Ginseng root, ginsenosides, functionality range, regeneration, planariy.

FGOU HVT the State university – ESIC
302020, Russia, Orel, Naugorsky highway, 29.
Phone: (4862) 42-00-24
e-mail: unpk@ostu.ru

