

УДК 615.322: 547.972+543.544

## СТАНДАРТИЗАЦИЯ СЫРЬЯ И ПРЕПАРАТОВ ЖЕНЬШЕНЯ

© 2012 А.С. Акушская<sup>1</sup>, В.А. Куркин<sup>1</sup>, М.В. Шнытко<sup>2</sup>, Л.А. Клейн<sup>2</sup><sup>1</sup> Самарский государственный медицинский университет<sup>2</sup> Колхозно-фермерское хозяйство «Питомник «Женьшень»

Поступила в редакцию 01.10.2012

Предложены методики качественного и количественного анализа действующих веществ (сапонинов) в сырье и препаратах женьшеня настоящего (*Panax ginseng* С.А.Мейер). С использованием разработанных методик оценки подлинности и качества сырья определены оптимальные условия заготовки корней женьшеня. На основании полученных данных обоснована целесообразность культивирования женьшеня в условиях Среднего Поволжья, а также использования корней женьшеня для производства новых лекарственных препаратов, в частности, сиропа и таблеток женьшеня. Для стандартизации по содержанию сапонинов сырья и препаратов предложен метод прямой спектрофотометрии с использованием удельного показателя поглощения гинзенозида Rg<sub>1</sub>, выделенного из корней данного растения.

Ключевые слова: *Panax ginseng* С.А.Мейер, корни, сапонины, стандартизация, сироп, таблетки

Источником многих лекарственных препаратов, повышающих устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям внешней среды, являются лекарственные растения. Одним из важных механизмов стимулирующего действия фитоадаптогенов, в частности, препаратов женьшеня, является оптимизация энергетического обеспечения процесса внутриклеточного образования аминокислот и их транспорта извне, что создает благоприятные условия для энергетических и пластических процессов в фазе суперкомпенсации, а также активации биосинтеза белков и нуклеиновых кислот [3]. Так, препараты женьшеня ускоряют процессы адаптации, стимулируют защитные силы организма, повышают его работоспособность и резистентность к экстремальным воздействиям. Это фармакологическое действие обусловлено богатым химическим составом растения – сапонины, полисахаридами, эфирным маслом, витаминами

полиацетиленами [4, 7]. Ведущая группа биологически активных веществ (БАВ) женьшеня представлена сапонины – тритерпеноидами стероидного происхождения [4] (рис. 1).

На фармацевтическом рынке РФ доминирующими являются дорогостоящие препараты женьшеня зарубежного производства (Гинсана, Доппельгерц женьшень, Гербион женьшень, Теравит антистресс, Геримакс женьшень) и БАДы (Геримакс энеджи, Витамакс). Отечественные препараты представлены лишь настойкой женьшеня, производителями которой являются фармацевтические фабрики (Тверская, Ивановская, Тульская), ВИФИТЕХ ЗАО, Камелия НПП и др. [9]. Преобладание импортных препаратов женьшеня в значительной степени может быть обусловлено отсутствием природных ресурсов женьшеня на территории РФ (женьшень занесен в Красную Книгу СССР и не подлежит неконтролируемому сбору), сложности культивирования растения в искусственно созданных условиях, медленным нарастанием биомассы корней (растение заготавливается лишь на 5-6-ой год жизни), а также несовершенством стандартизации исходного сырья. В РФ в ГФ СССР XI издания существует фармакопейная статья (ФС) на корни женьшеня [1], однако и в ней отражены не все показатели качества, предъявляемые в соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» к ФС на лекарственное растительное сырье [6]. В частности, не нормируется содержание

Акушская Алина Сергеевна, аспирантка. E-mail: akushskaya.as@gmail.ru

Куркин Владимир Александрович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Шнытко Мария Викторовна, руководитель колхозно-фермерского хозяйства «Питомник «Женьшень». E-mail: mariya\_685@mail.ru

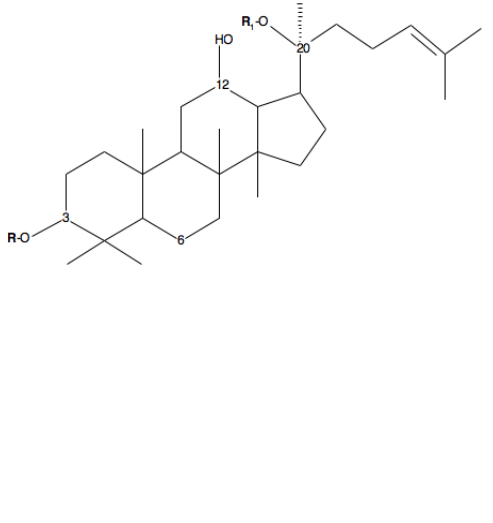
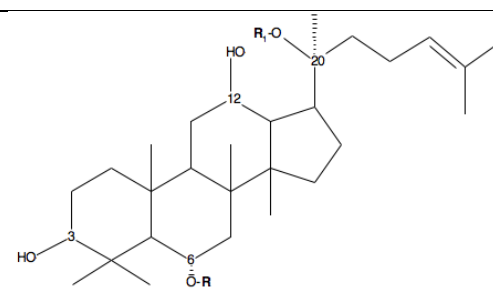
Клейн Людмила Алексеевна, заместитель руководителя колхозно-фермерского хозяйства «Питомник «Женьшень»

действующих веществ, а качественный анализ представлен пробирочными реакциями и методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), однако условия проведения хроматографирования не обеспечивают четкого разделения детектируемых веществ.

**Цель работы:** исследование по обоснованию новых подходов к стандартизации сырья и созданию препаратов женьшеня настоящего.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали ТСХ, адсорбционную жидкостную колоночную хроматографию и метод спектро-

скопии в УФ- и видимой области спектра. В методе ТСХ разделение проводили на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ». Регистрацию спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena) в диапазоне длин волн 190-700 нм. Разработка технологии новых препаратов проводилась в соответствии с классическими методами получения настоек (модифицированная мацерация с термическим фактором), сиропов (получение сиропов, в состав которых входят извлечения из ЛРС) и таблеток (метод прямого прессования) [10].

	Сапонины	R	R <sub>1</sub>
	<b>20S-протопанаксадиол</b>	H	H
	Гинзенозид <b>a<sub>1</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -Glc	Xyl-1→4-Ar(pyr)1→ 6- $\beta$ -D-Glc
	Гинзенозид <b>a<sub>2</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	Xyl-1→4-Ar(fur)1→ 6- $\beta$ -Glc
	Гинзенозид <b>Rb<sub>1</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	$\beta$ -D-Glc-1→ 6- $\beta$ -Glc
	Гинзенозид <b>Rb<sub>2</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	$\alpha$ -L-Ar-1→ 6- $\beta$ -Glc
	Гинзенозид <b>Rb<sub>3</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	Xyl-1→ 6- $\beta$ -Glc
	Гинзенозид <b>Rb<sub>c</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	$\alpha$ -L-Ar(fur)-1→ 6- $\beta$ -Glc
Гинзенозид <b>Rb<sub>d</sub></b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	$\beta$ -Glc	
Производные 20S-протопанаксадиола			
	Сапонины	R	R <sub>1</sub>
	<b>20S-протопанаксастриола</b>	H	H
	Гинзенозид <b>Re</b>	$\alpha$ -L-Rha-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	$\beta$ -D-Glc
	Гинзенозид <b>Rf</b>	$\beta$ -D-Glc-1→ 2- $\beta$ -Glc	H
	Гинзенозид <b>Rg<sub>1</sub></b>	$\beta$ -D-Glc	$\beta$ -D-Glc
Гинзенозид <b>Rg<sub>2</sub></b>	$\alpha$ -L-Rha-1→ 2- $\beta$ -D-Glc	H	
Производные 20S-протопанаксастриола			

**Рис. 1.** Сапонины (гинзенозиды, панаксозиды) корней женьшеня настоящего

**Результаты и их обсуждение.** В ходе предварительного изучения химического состава корней женьшеня настоящего методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии нами было выделено вещество, которое по физико-химическим константам, данным УФ-, ЯМР- и масс-спектрам охарактеризовано как гинзенозид Rg<sub>1</sub> (6,20-Бис-( $\beta$ -D-глюкопиранозил)-(3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,20S)-3,6,12,20-тетрагидроксидаммар-24-ен). Были измерены электронные спектры поглощения этого соединения в УФ- и видимой области спектра, рассчитан удельный показатель поглощения при аналитической длине волны 526±2 нм в 96% этиловом спирте, содержащем

70% серную кислоту, который составил 25. Метод электронной спектроскопии может быть использован для определения подлинности сырья благодаря наличию максимумов поглощения в УФ- и видимой области спектра, характерных для растворов индивидуальных веществ и извлечений из сырья. В ходе исследования нами было выявлено, что кривая поглощения в УФ- и видимой области спектра раствора очищенного водно-спиртового извлечения из воздушно-сухих корней после проведения реакции с 70% серной кислотой имеет максимумы поглощения при длинах волн 320±2 нм, 390±2 нм и 526±2 нм (рис. 2). В длинноволновой области спектра

комплекс, полученный при взаимодействии спиртового раствора гинзенозида  $Rg_1$  с серной кислотой, так же наблюдается четкий максимум поглощения при  $526 \pm 2$  нм (рис. 2). Следовательно, за аналитическую длину волны можно принять значение 526 нм, а стандартным образцом может служить сапонин – гинзенозида  $Rg_1$ . В случае отсутствия стандарта в расчетной формуле может быть использовано теоретическое значение удельного показателя поглощения ( $E_{1cm}^{1\%}$ ) – 25.

Для качественного анализа корней нами предложено проводить разделение в системе хлороформ – метанол – вода (26:14:3), проявление 20% спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК) с детекцией в видимой области спектра. На хроматограмме извлечения из корней женьшеня обыкновенной обнаруживаются 6 пятен пурпурно-красного цвета с величиной  $R_f$  от 0,10 и 0,50 (гинзенозиды) (рис. 2). Результаты данных исследований свидетельствуют о целесообразности использования спектрофотометрии в УФ и видимой области спектра и ТСХ для идентификации корней женьшеня. С использованием разработанной методики был проанализирован ряд образцов сырья, в числе которых корни женьшеня, выращенные в Самарской и Брянской областях, а также в Китае и Корее. Содержание суммы сапонинов в исследуемых образцах варьирует от 2,78% до 6,11%.

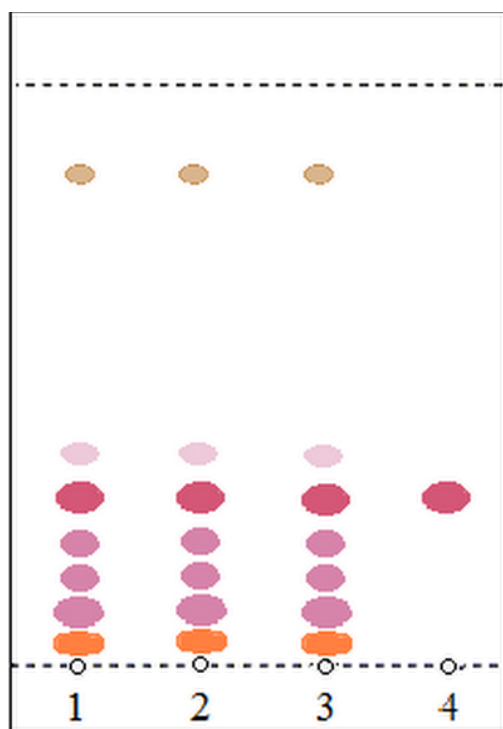


Рис. 2. ТСХ-анализ:

1 – извлечение из корней женьшеня; 2 – настойка женьшеня; 3 – ацетоновое извлечение из сиропа; 4 – рабочий стандартный образец (PCO) гинзенозида  $Rg_1$

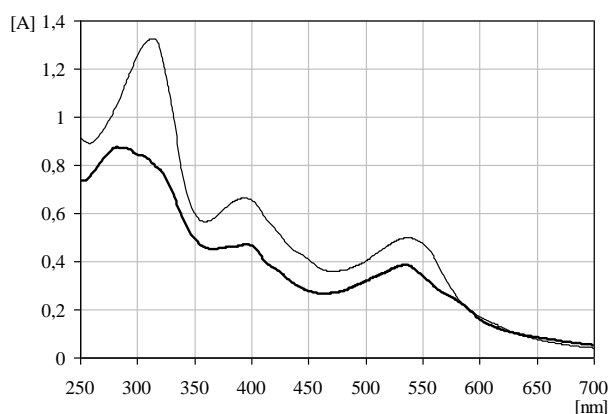


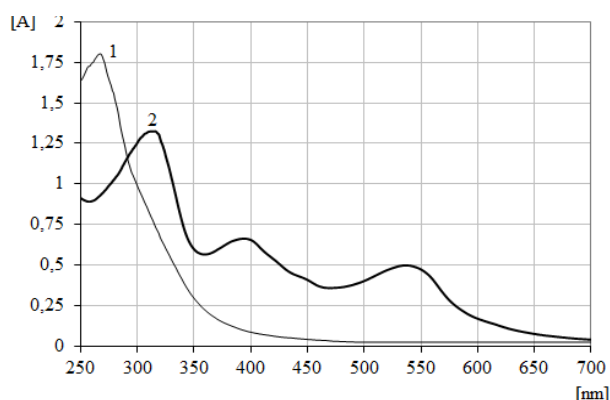
Рис. 3. Электронные спектры окрашенного продукта взаимодействия водно-спиртового извлечения из корня женьшеня, очищенного на полиамиде, с 70% серной кислотой (1) и продукта реакции гинзенозида  $Rb_1$  с 70% серной кислотой (2)

20-летний опыт внедрения и культивирования женьшеня к условиям Среднего Поволжья [11], а также разработанные методики оценки подлинности и качества сырья позволили определить оптимальные условия заготовки корней женьшеня в рамках данной местности: надлежащее время сбора – середина-конец сентября, температура сушки измельченных корней – 50-55°C. Проведенные ранее фармакологические исследования [2] позволили выявить наличие близкой тонизирующей, анксиолитической и ноотропной активности извлечений из корней женьшеня на 40% и 70% спирте. Данный факт делает возможным использование разработанных настоек в качестве исходной субстанции для получения сиропа и таблеток женьшеня. В качестве основы для получения сиропа нами использованы различные корригенты – сахароза, фруктоза и сорбит – в концентрации 60-64%. Фруктоза и сорбит имеют ряд преимуществ: сироп на их основе может применяться при лечении и профилактике астенических состояний у диабетических больных, при комплексной терапии сахарного диабета. Для обоснования концентрации настойки в сиропе и лечебной разовой дозы учтено, что рекомендуемая лечебная доза настойки – 20 капель 2 раза в день. Проведенные расчеты показали, что необходимое количество гинзенозидов содержится в 1 чайной ложке сиропа с 10% настойки.

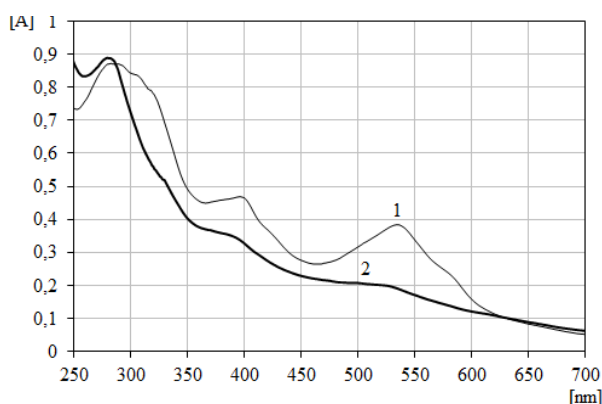
Для того, чтобы при замене растворителя избежать выпадения в осадок действующих веществ, содержащихся в настойке, необходимо вводить в сироп настойку с минимальным содержанием этилового спирта. Поэтому в качестве экстрагента при получении настойки целесообразно использовать 40% этиловый спирт. Полученные сиропы на всех основах стабильны, хорошо высвобождают действующие вещества,

корригенты не влияют на результаты качественного и количественного анализа. Технологическая схема получения сиропа женьшеня включает следующие стадии: получение настойки (экстрагирование лекарственного растительного сырья, его очистка и стандартизация), приготовление вкусового сиропа (варка, фильтрование, стандартизация), смешивание промежуточных продуктов, стандартизация готового продукта.

В соответствии с требованиями для стандартизации сиропа проведена оценка органолептических свойств, физико-химических и микробиологических показателей качества [1]. Современные требования, предъявляемые к методикам анализа сырья и препаратов на основе ЛРС, предполагают универсальный подход к определению ведущей группы БАВ [8]. Таким образом, по аналогии с разработанными методиками определения суммы сапонинов в корнях женьшеня и настойке женьшеня, апробированы и метрологически аттестованы методики качественного и количественного определения суммы сапонинов в сиропе женьшеня (рис. 2, 4, 5).



**Рис. 4.** Спектры поглощения настойки женьшеня на 40% этиловом спирте (1) и суммы сапонинов, полученной путем очистки настойки на полиамиде и взаимодействия с серной кислотой 70% (2)



**Рис. 5.** Спектры поглощения комплексов гинзенозида Rg<sub>1</sub> с серной кислотой 70% (1) и упаренного очищенного ацетонового извлечения из сиропа с серной кислотой 70% (2)

При разработке состава и технологии таблеток в качестве основы для получения таблеток женьшеня использовали такие вспомогательные вещества, как лактоза (наполнитель) и микрокристаллическая целлюлоза (связующее вещество) в соотношении 2:3. После измельчения и смешивания порошков к смеси добавляли экстракт женьшеня жидкий (1:1) из расчета 7 капель на 1 таблетку, что соответствует лечебной суточной дозе таблеток – 1 таблетка в день. Полученную таблеточную массу опудривали стеаратом кальция, добавляя его в количестве 1% от смеси, и прессовали на кривошипной таблеточной машине. Качество полученной серии таблеток соответствовало стандартным фармакопейным показателям (ГФ СССР XI издания) [1]. Таким образом, в ходе исследования обоснована целесообразность выращивания женьшеня настоящего в промышленных масштабах в условиях Самарской области, разработаны методы стандартизации корней женьшеня. Обоснованы состав и технология получения сиропа и таблеток женьшеня и методики контроля их качества. Разработанные методики могут быть включены в фармакопейную статью корни женьшеня воздушно-сухие, а также в нормативную документацию на препараты.

#### Выводы:

1. Определены оптимальные условия культивирования и заготовки корней женьшеня, произрастающих в колхозно-фермерском хозяйстве «Питомник «Женьшень»».
2. Предложены рациональные подходы к составу и технологии лекарственных препаратов для улучшения процессов адаптации и лечения астенических состояний – сиропа и таблеток женьшеня.
3. Разработаны методики качественного анализа (тонкослойная хроматография, электронная спектроскопия), позволяющие идентифицировать корни и подтвердить их подлинность, а также методики количественного определения сапонинов методом прямой спектрофотометрии, которые позволят унифицировать стандартизацию сырья и препаратов по содержанию действующих веществ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. 400 с.
2. Корчагина, Д.В. Нейротропные эффекты препаратов женьшеня / Д.В. Корчагина, А.В. Дубищев, В.А. Куркин, А.С. Акушская // Материалы V международной конференции «Фармация и общественное здоровье». – Екатеринбург, 2012. С. 174-176.

3. Куркин, В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. 963 с.
4. Куркин, В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов.) / 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. 1239 с.
5. Куркин, В.А. Определение сапонинов в корнях женьшеня / В.А. Куркин, А.С. Акушская // Фармация. 2012. Т. 60, № 3. С. 18-20.
6. ОСТ 91500.05.001-00. Отраслевой стандарт. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения.
7. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства Fabaceae – Ариасеae / Отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. 601 с.
8. Самылина, И.А. Пути использования лекарственного растительного сырья и его стандартизация / И.А. Самылина, И.А. Баландина // Фармация. 2004. Т. 52, № 2. С. 39-41.
9. Справочник РЛС: лекарственные средства и препараты. Инструкция, применение, описание. Режим доступа: <http://www.rlsnet.ru>
10. Чуешов, В.И. Промышленная технология лекарств: учебник для вузов: в 2-х т. Том 2. / В.И. Чуешов, М.Ю. Чернов, Л.М. Хохлова. – Харьков. МТК-Книга; издательство НФАУ, 2002. 716 с.
11. Шнытко, М.В. Инновационные разработки в области выращивания женьшеня в условиях Среднего Поволжья / М.В. Шнытко, Л.А. Клейн // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции «Современная фармацевтическая наука и практика: традиции, инновации, приоритеты». – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2011. С. 154.

## STANDARDIZATION OF MEDICAL PLANT AND PREPARATIONS OF *PANAX GINSENG* C.A.Meyer

© 2012 A.S. Akushskaya<sup>1</sup>, V.A. Kurkin<sup>1</sup>, M.V. Shnytko<sup>2</sup>, L.A. Klein<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Samara State Medical University

<sup>2</sup> Collective Farm «Nursery Питомник «Ginseng»

There were developed the techniques of qualitative and quantitative analysis of biological active compounds (saponins) in plant material and preparations (tincture, syrup and tablets) of ginseng (*Panax ginseng* C.A.Meyer). By using of the developed methodics for estimation of the authenticity and quality of plant material there were determined the optimal conditions for procurement of roots of *Panax ginseng* C.A.Meyer. Based on these data there was substantiated the expediency of cultivation ginseng roots in Samara region and of the using of the ginseng roots for the obtaining of preparations including the syrup and tablets of this plant. To standardization of the content of saponins in the roots and preparations there were proposed the method of direct spectrophotometry using the specific absorbance of ginsenoside Rg<sub>1</sub> at 526 nm.

Key words: *Panax ginseng* C.A.Meyer, roots, saponins, standardization, syrup, tablets

---

Alina Akushskaya, Post-graduate Student. E-mail: [akushskaya.as@gmail.ru](mailto:akushskaya.as@gmail.ru)

Vladimir Kurkin, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. E-mail: [Kurkinvladimir@yandex.ru](mailto:Kurkinvladimir@yandex.ru)

Maria Shnytko, Director. E-mail: [maria\\_y\\_685@mail.ru](mailto:maria_y_685@mail.ru)  
Lyudmila Klein, Deputy Director