

УДК 615.322 : 547.972+543.544

КОМПЛЕКСНОЕ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ И ФАРМАКО- ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЖЕНЬШЕНЯ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ

© 2014 А.С. Акушская, В.А. Куркин, И.К. Петрухина

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 03.10.2014

Впервые изучено анатомическое строение и характер сложения тканей корневищ с корнями и надземной части женьшеня настоящего (*Panax ginseng* С.А.Мейер), культивируемого в Самарской области. Разработаны новые подходы к стандартизации официального (корней) и нового (трава) лекарственного растительного сырья и препаратов женьшеня, а также соответствующие методики качественного и количественного анализа с использованием стандартного образца гинзенозида R_{g1}. Обоснована целесообразность создания и применения в медицинской практике импортзамещающих лекарственных средств, в том числе препаратов «Женьшеня настойка», «Женьшеня таблетки» и «Женьшеня сироп».

Ключевые слова: *женьшень настоящий, Panax ginseng* С.А. Мейер, корни, трава, стандартизация, лекарственные препараты

В рамках реализации Стратегии развития фармацевтической отрасли Российской Федерации до 2020 г. важным направлением является расширение ассортимента эффективных и безопасных лекарственных средств и усиление мер по контролю качества производимых лекарственных препаратов (ЛП) [5]. Выбор объекта исследования – женьшеня настоящего (*Panax ginseng* С.А. Мейер) – обусловлен особой социальной значимостью сектора фармацевтического рынка, представленного препаратами группы «Общетонизирующие средства и адаптогены». Данный эффект растения обеспечивает целый ряд биологически активных соединений, и в частности, сапонины – тритерпеноиды стероидного происхождения [4]. Несмотря на многолетний опыт изучения женьшеня и его широкое применение, существуют нерешенные проблемы в области стандартизации сырья и препаратов. Так, Государственная Фармакопея (ГФ) СССР XI издания для определения подлинности корней предлагает метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), однако условия хроматографирования не позволяют достичь четкого разделения веществ. В разделе «Числовые показатели» нормируются величины экстрактивных веществ, влажности и

золы, которые не могут трактоваться как объективные, достоверные и надежные показатели качества. Раздел «Количественное определение» в фармакопейной статье отсутствует [1].

На фармацевтическом рынке РФ спектр ЛП женьшеня обширен, однако доминирующими являются ЛС и биологически активные добавки зарубежного производства [2]. Отечественные препараты представлены лишь настойкой женьшеня. Поэтому актуально расширение ассортимента лекарственных препаратов на основе данного сырья в сочетании с разработкой объективных и унифицированных методов анализа сырья и препаратов. Особого внимания заслуживает вопрос относительно сырьевой базы женьшеня настоящего. Природные ресурсы растения истощены, оно занесено в Международную Красную книгу. На территории РФ женьшень культивируется в Приморском крае, на Кавказе, в Брянской области, а также Самарской области в крестьянско-фермерском хозяйстве питомник «Женьшень». Существуют также научные данные о адаптогенном, гипогликемическом, противогипоксическом действии извлечений из травы женьшеня. Поэтому с точки зрения ресурсосберегающих технологий актуальным и перспективным является фармакогностическое изучение листьев и стеблей данного растения.

Цель работы: комплексное фармакоэкономическое и фармакогностическое исследование фармакопейного сырья женьшеня настоящего, а также надземной части данного растения.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

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

Петрухина Ирина Константиновна, кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой экономики и управления фармации. E-mail: ditrich@samaramail.ru

1. Анализ ассортимента ЛП группы общетонизирующих средств и адаптогенов, представленных на фармацевтическом рынке Самарской области и РФ в целом.
2. Исследование анатомо-морфологических признаков корневищ с корнями и надземной части женьшеня настоящего.
3. Обоснование новых подходов к стандартизации сырья и ЛП женьшеня с учетом принципа унификации методик в ряду ЛРС – субстанция – лекарственная форма.
4. Разработка методик качественного и количественного анализа корневищ с корнями и надземной части женьшеня.
5. Оптимизация технологии ЛП «Женьшеня настойка», обоснование состава и технологии ЛП «Женьшеня сироп» и «Женьшеня таблетки».
6. Разработка методик качественного и количественного анализа ЛП «Женьшеня настойка», «Женьшеня сироп» и «Женьшеня таблетки».

Объектами исследования служили:

- сектор фармацевтического рынка Самарской области и РФ в целом, представленный общетонизирующими и адаптогенными ЛП;
- корневища, корни, вегетативные органы надземной части женьшеня, культивируемого в Самарской обл., а также корни дикорастущего растения;
- лабораторные образцы субстанций и препаратов;
- образцы настоек женьшеня различных производителей;

Исследование проводили **методом** электронно-цифровой микроскопии, с помощью химических, хроматографических, физико-химических методов, а также методов получения лекарственных средств и оценки фармакологической активности.

Результаты проведенного анализа показали, что среди растительных адаптогенных препаратов преобладают препараты, приготовленные на основе корней женьшеня настоящего – 30%. Почти четверть рынка фитоадаптогенов (21%) занимают средства на основе корневищ и корней элеутерококка колючего. Далее идут препараты на основе корней и корневищ родиолы розовой (17%) плодов и семян лимонника китайского, алоэ и березового гриба (по 8%), корней аралии манчжурской (4%), и только по 2% составляют препараты на основе левзеи сафлоровидной и заманихи высокой.

Проведено анатомо-морфологическое и гистологическое исследование надземных и подземных вегетативных органов женьшеня настоящего. В сравнительном плане изучено строение отдельных частей сырья – корневища, главного и придаточного корней. На основании

полученных данных взамен ранее используемому названию сырья «Женьшеня корни» предложено новое наименование – «Женьшеня корневища с корнями», которое более полно отражает состав используемого сырья. Впервые изучены анатомические и морфологические особенности потенциального сырья «Женьшеня трава», перспективного в качестве источника БАС и в рамках комплексного использования растения. В частности, исследовано строение черешка листа женьшеня – петиолярная анатомия, которая является современным узкоселективным методом диагностики лекарственного растительного сырья (ЛРС). Выявленные диагностические признаки и иллюстрации микропрепаратов положены в основу раздела «Микроскопия» проекта ФС «Женьшеня корневища с корнями». Диагностические признаки листьев и стеблей, а также их микрофотографии в дальнейшем могут быть рекомендованы для включения в проект ФС «Женьшеня трава».

Методом ТСХ проведен фитохимический анализ различных органов женьшеня. На полученных хроматограммах видно, что в корнях и надземной части содержатся сапонины как в форме гликозидов, так и в форме агликонов. Кроме того, в надземной части содержатся флавоноиды. В результате спектрофотометрического анализа получены кривые поглощения извлечений из корней и надземной части женьшеня. Максимум поглощения водно-спиртового извлечения из корней женьшеня находится при длине волны 268 нм, извлечения из травы – при длине волны 273 нм и 320 нм, что свидетельствует о различной химическом составе. Кривая поглощения раствора извлечения из травы обусловлена, на наш взгляд, в большей степени, флавоноидами, спектр извлечения из корней – веществами терпеноидной природы.

Методом адсорбционной колоночной хроматографии в сочетании с перекристаллизацией и различными химическими превращениями из корней и листьев женьшеня настоящего выделено 3 индивидуальных соединения. Для установления структуры выделенных веществ использованы данные УФ-, ¹H-ЯМР- и масс-спектров. По своим физико-химическим и спектральным характеристикам гинзенозид Rg₁ является перспективным веществом в плане использования в качестве рабочего стандартного образца (РСО) в методиках контроля качества сырья и препаратов женьшеня. Кемпферол-3-О-дигликозид (3-О-дигликозид 3,5,7,4¹-тетрагидроксифлавонона) представляет собой новое природное соединение, которое впервые выделено из данного растения и является доминирующим флавоноидом травы женьшеня. Для него впервые получены

данные ^1H -ЯМР-спектра и спектральные характеристики. С использованием РСО гинзенозида R_{g1} разработаны методики качественного и количественного анализа корней и травы женьшеня [3].

Для определения подлинности корней женьшеня предложен метод ТСХ, предусматривающий проявление хроматограммы 20% спиртовым раствором ФВК и использование для сравнения спиртовой раствор РСО гинзенозида R_{g1} с величиной R_f около 0,3 (одно из доминирующих пятен). Наиболее четкое разделение веществ достигается в системе растворителей «хлороформ-метанол-вода» в соотношении 24:14:3. При этом на хроматограмме должны обнаруживаться не менее 6 пурпурно-красных пятен, принадлежащих гинзенозидам, с R_f от 0,10 до 0,50. При оценке подлинности травы женьшеня предложено определение двух групп БАС – сапонинов и флавоноидов.

Качественное обнаружение сапонинов в траве методом ТСХ целесообразно проводить при условиях, аналогичных определению сапонинов в корнях. Определение флавоноидов методом ТСХ следует проводить в сравнении с государственным стандартным образцом (ГСО) рутина, фактор удерживания которого совпадает со значением R_f кемпферол-3-О-диксилозида. Для определения содержания суммы сапонинов в корнях женьшеня разработана методика спектрофотометрического анализа. Для исключения вклада сопутствующих веществ предложено проводить очистку водно-спиртового извлечения на сорбенте полиамиде, затем проводить реакцию с 70% серной кислотой. Данный реактив приводит к образованию стабильного комплекса с сапонидами, окрашенного в розовый цвет. Раствор имеет максимумы поглощения при длинах волн 320 ± 2 нм, 390 ± 2 нм (пл) и 526 ± 2 нм, при этом последний максимум совпадает с максимумом поглощения гинзенозида R_{g1} после проведения реакции с 70% серной кислотой. Оптимальными условиями получения анализируемого раствора является экстрагирование сырья 70% этиловым спиртом в течение 90 минут в соотношении 1:30 и проведение реакции с 70% серной кислотой в течение 10 минут.

Разработана методика количественного определения суммы сапонинов в траве. За основу взята пробоподготовка, применяемая в методике количественного определения сапонинов в корнях, однако для очистки извлечения от хлорофилла и других липофильных веществ, завышающих результаты, введена стадия очистки водно-спиртового извлечения хлороформом. Для определения содержания суммы флавоноидов в траве предложен метод дифференциальной

спектрофотометрии с использованием ГСО рутина при 412 нм.

Разработанные методики качественного и количественного определения суммы сапонинов в корнях женьшеня, а также предложенный нижний предел содержания суммы сапонинов «не менее 2,0%» включены в проект ФС на «Женьшеня корневища с корнями», принятой на рассмотрение ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». Подходы к анализу надземной части женьшеня в дальнейшем могут быть рекомендованы для включения в проект ФС «Женьшеня трава». Проведены исследования по разработке способов получения и методов контроля качества ЛП «Женьшеня настойка», «Женьшеня сироп» и «Женьшеня таблетки».

Разработан новый способ получения настойки женьшеня с использованием этилового спирта в соотношении 1:5 при нагревании. Разработаны и апробированы методики качественного и количественного анализа настойки с использованием гинзенозида R_{g1} . Содержание суммы сапонинов в образцах разработанной настойки составляет от 0,97% до 1,17%. На этом основании предложен нижний предел содержания ведущей группы БАС «не менее 0,4%». Полученные данные включены в проект ФС «Женьшеня настойка».

Предложен оригинальный состав сиропа женьшеня на основе фруктозы и сорбита. Разработанные методики качественного и количественного определения суммы сапонинов метрологически аттестованы, обоснованы числовые показатели и срок хранения – 1,5 года. В качестве нижнего предела содержания ведущей группы БАС предложено значение «не менее 0,04%». Полученные данные включены в проект ФС «Женьшеня сироп».

Разработана технология получения таблеток с жидким экстрактом женьшеня, полученным в соотношении 1:1 на 70% этаноле, предложены методы стандартизации таблеток и показатели качества. Содержание суммы сапонинов в 1 таблетке в пересчете на гинзенозид R_{g1} варьирует от 3,17 мг до 3,47 мг.

Выводы:

1. Разработан проект ФС «Корневища с корнями женьшеня».
2. Проведено фармакогностическое изучение надземной части женьшеня: определены диагностические признаки листа, черешка листа и стебля женьшеня, разработаны методики качественного и количественного анализа суммы сапонинов и флавоноидов.
3. Усовершенствована технология и разработан проект ФС на ЛП «Женьшеня настойка»

4. Разработана технология и разработан проект ФС на ЛП «Женьшень сироп».

5. Разработана технология и методики контроля качества ЛП «Женьшень таблетки».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11 изд. – М.: Медицина, 1990. Вып. 2. 398 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Электрон. дан., 2014. Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>
3. Куркин, В.А. Определение сапонинов в корнях женьшеня / В.А. Куркин, А.С. Акушская // Фармация. 2012. Т. 60, № 4. С. 18-20.
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. Министерство промышленности и торговли Российской Федерации: Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года. – М., 2009.

COMPLEX PHARMACOGNOSTIC AND PHARMACOECONOMIC STUDY OF *PANAX GINSENG* C.A.MEYER FROM THE POINT OF RESOURCE-SAVING TECHNOLOGIES VIEW

© 2014 A.S. Akushskaya, V.A. Kurkin, I.K. Petrukhina

Samara State Medical University

The anatomic structure and nature of addition the tissues of rhizomes with roots and elevated part of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) cultivated in Samara oblast is for the first time studied. New approaches to standardization of officinal (roots) and new (grass) of medicinal vegetable raw materials and preparations of ginseng, and also the corresponding methods of qualitative and quantitative analysis with use of a standard sample of ginsenosid Rg1 are developed. Expediency of creation and application in medical practice of import-substituting medicines, including preparations "Ginseng tincture", "Ginseng tablet" and "Ginseng syrup" is proved.

Key words: *ginseng, Panax ginseng* C.A. Meyer, roots, grass, standardization, medicines

Alina Akushskaya, Post-graduate Student. E-mail: 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

Irina Petrukhina, Candidate of Pharmacy, Associate Professor, Head of the Economy and Management of Pharmacy. E-mail: ditrich@samaramail.ru