

РЕШЕТНИКОВ В.Н., ШУТОВА А.Г.✉, ШИШ С.Н., ГИЛЬ Т.В.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»,

Беларусь, 220012, г. Минск, ул. Сурганова, 2в, e-mail: anna\_shutova@mail.ru

✉ anna\_shutova@mail.ru, 8 (017) 284 14 64

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА АНТИРАДИКАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ *PANAX GINSENG* С. А. MEYER

**Цель.** Целью работы являлась оценка антирадикальной активности экстрактов подземных и надземных органов женьшеня *Panax ginseng* С.А. Меу в зависимости от различных факторов – возраста растений, времени сбора и условий культивирования. **Методы.** Экстракты, полученные из различных органов растений, оценивались в модельной системе с катион-радикалами АБТС. Параллельно определялось количество экстрактивных веществ и фенольных соединений. **Результаты.** Проанализированы образцы листьев и корней женьшеня 1, 2, 3, 5 годов вегетации из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Установлено, что экстракты листьев женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) могут рассматриваться как достаточно эффективные антирадикальные агенты. Антирадикальная активность экстрактов корней и листьев женьшеня значительно отличалась в зависимости от погодных условий вегетационного периода. **Выводы.** Показано, что максимальной антирадикальной активностью отличаются экстракты листьев женьшеня. Экстракты корней женьшеня проявили значительно меньшую антирадикальную активность в сравнении с экстрактами листьев, что может быть связано как с меньшим количеством экстрактивных веществ, извлекаемых при водно-этанольной экстракции, так и с их составом.

**Ключевые слова:** женьшень, антирадикальная активность, фенольные соединения, экстрактивные вещества.

*Panax ginseng* С.А. Меу относится к семейству Аралиевых (Araliaceae). Произрастает на Дальнем Востоке, в Северо-Восточном Китае и на Корейском полуострове. В Беларуси данная культура нетрадиционна, однако в ряде исследований была показана перспективность культивирования различных видов женьшеня, в том числе в качестве источника биологически активных веществ [1, 2]. Корни *Panax ginseng* С.А. Меу оказывают разнообразные фармакологиче-

ские эффекты, основными являются такие, как антивозрастной, антиоксидантный, стимулирующее воздействие на сердечно-сосудистую и иммунную системы, улучшение когнитивной деятельности и т. д. [3, 4]. Большинство данных, имеющихся в литературе, относятся к исследованию гинзенозидов корней и связанных с ними фармакологических эффектов [5, 6]. Активность надземных органов женьшеня практически не изучена. В то же время, в связи с возможным присутствием других классов биологически активных веществ, интересным представляется оценить перспективы использования листьев в качестве антиоксидантных и антирадикальных агентов. Поэтому целью нашей работы являлась оценка антирадикальной активности экстрактов подземных и надземных органов женьшеня в зависимости от различных факторов – возраста растений, времени сбора и условий культивирования. 2016 и 2017 гг. в центральной агроклиматической зоне Беларуси были контрастными как по температурным показателям, так и по количеству выпавших осадков, что не могло не сказаться на накоплении биологически активных веществ в лекарственных растениях в эти периоды. Если средняя температура в 2016 году была на 2°C выше нормы, то 2017 год отличался понижением средней температуры в течение вегетационного периода. Например, средняя температура в июле 2017 года составляла около 15,5°C, это значительно ниже нормы (на 3,5°C). Однако, устойчивый переход средней суточной температуры воздуха через 5°C (начало вегетационного периода) осуществился на большей части территории страны 3–4 апреля, на декаду-полторы раньше своих обычных сроков в 2017 году. 2017 год также отличался большим количеством осадков [7]. В связи с этим интересно было оценить воздействие двух контрастных по климатическим показателям сезонов на накопление в листьях и корнях женьшеня биологически активных веществ, отвечающих за антиоксидантный эффект.

© РЕШЕТНИКОВ В.Н., ШУТОВА А.Г., ШИШ С.Н., ГИЛЬ Т.В.

### Материалы и методы

Растения *P. ginseng* выращивались на коллекционном участке Центрального ботанического сада НАН Беларуси с формированием однотипных посадок одинакового возраста на отдельных грядах с постоянным притенением и мульчированием почвы. Образцы собирались в течение периода вегетации с растений различного возраста, высушивались над силикагелем и далее подвергались биохимическому анализу. Проанализированы образцы листьев и корней женьшеня 1,2,3,5 годов вегетации, собранные в период 08.2016 – 08.2017.

Высушенное растительное сырье подвергалось двукратной экстракции 70% раствором этанола в воде в течение 1 часа, затем экстракты после фильтрации оценивались по их реакционной способности по отношению к катион-радикалу 2,2-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоной кислоты) (АБТС<sup>++</sup>). Определение антирадикальной активности экстрактов женьшеня проводили по методу [8].

Раствор АБТС<sup>++</sup> готовили реакцией 5 мл  $7 \cdot 10^{-3}$  М водного раствора АБТС и 88 мкл  $140 \cdot 10^{-3}$  М водного раствора  $K_2S_2O_8$ . После выдерживания в темноте в течение 16 часов раствор катион-радикала был диспергирован в воде.

Для определения антиоксидантной активности 10–200 мкл раствора исследуемого экстракта добавляли к 2,0 мл раствора АБТС<sup>++</sup> в стеклянной кювете и при температуре 25°C измеряли поглощение смеси при 734 нм во времени (спектрофотометр Agilent 8453). Для характеристики антирадикальной активности использовали значение оптической плотности спустя 60 и 280 с после смешивания. Активность экстрактов и фракций в реакции с АБТС<sup>++</sup> определяли относительно тролокса как стандарта.

Сравнительная оценка антирадикальной активности проводилась по величине антирадикального параметра (АП), который рассчитывается, как тангенс угла наклона прямых зависимостей  $D_0 - D$  от концентрации экстракта и антирадикальной активности (АРА), представляющей собой величину, показывающую количество молей стандартного антиоксиданта тролокса, оказывающего такое же действие, как 1 мл экстракта.

Для определения общего содержания фенольных соединений применяли метод Фолина-Чокальтеу [9]. Для калибровки использовали галловую кислоту в диапазоне концентраций 0,05–0,75 г/л.

Содержание экстрактивных веществ определяли по методу, описанному в Государственной фармакопее Республики Беларусь [10].

Полученные результаты обработаны с помощью статистического пакета программ М.Ехсel и Stadia 8.0. Повторность опыта четырехкратная.

### Результаты и обсуждение

В пересчете на грамм сухого растительного сырья наибольшая антиоксидантная активность установлена для экстрактов листьев всех годов вегетации в сравнении с корнями (табл., рис.).

В сентябре 2016 года образцы листьев первого года вегетации оставались весьма активными в системе с катион-радикалами АБТС в пересчете на 1 г сухого растительного сырья. Для растений второго года вегетации в сентябре 2016 г. наблюдалось снижение антирадикальной активности в сравнении с однолетними растениями как для экстракта листьев, так и для экстракта корней женьшеня. Однако у растений третьего года вегетации антирадикальная активность листьев и корней вновь возрастала.

Установлена тесная корреляционная связь между содержанием экстрактивных веществ в экстрактах и проявляемой экстрактами антирадикальной активностью в пересчете на г сухого сырья ( $r = 0,81$ ,  $n = 13$  для времени реакции 280 с;  $r = 0,71$ ,  $n = 13$  для времени реакции 60 с) для растений, исследованных в 2016 году.

Следует отметить, что антирадикальная активность экстрактов листьев и корней в 2017 году была в целом выше, что, вероятно, можно связать с достаточным количеством осадков и более ранним началом вегетации, что в целом благоприятно сказалось на развитии растений женьшеня. Также, как и в 2016 году, отмечена более высокая антирадикальная активность экстрактов листьев женьшеня в сравнении с корнями (рис.). Показано снижение антирадикальной активности экстракта листьев женьшеня 3-го года вегетации.

Таблица. Показатели антиоксидантной активности экстрактов женьшеня

Возраст растения, год	Орган растения	АП		АРА, ммоль тролокса/г		Содержание экстрактивных веществ в сухом растительном сырье, г/г	Фенольные соединения, г/100 г
		60 с	280 с	60 с	280 с		
15.08.2016							
1	лист	0,99	2,23	0,26	0,59	0,83	6,17±0,39
1	корень	0,32	0,36	0,08	0,10	0,41	0,63±0,02
2	лист	1,08	1,22	0,28	0,32	0,42	1,47±0,37
2	корень	0,04	0,05	0,01	0,01	0,08	0,07±0,01
5	лист	1,24	1,32	0,33	0,35	0,56	0,21±0,04
5	корень	0,07	0,08	0,02	0,02	0,15	0,13±0,01
15.09.2016							
1	лист	5,00	5,33	1,32	1,40	0,80	1,60±0,18
1	корень	0,24	0,30	0,06	0,08	0,26	0,68±0,03
2	лист	0,59	0,63	0,15	0,17	0,23	0,93±0,13
2	корень	0,08	0,10	0,02	0,03	0,15	0,14±0,01
3	лист	1,07	1,28	0,28	0,34	0,66	2,18±0,32
3	корень	0,11	0,14	0,03	0,04	0,19	0,21±0,04
5	лист	0,25	0,26	0,07	0,07	0,10	1,71±0,05

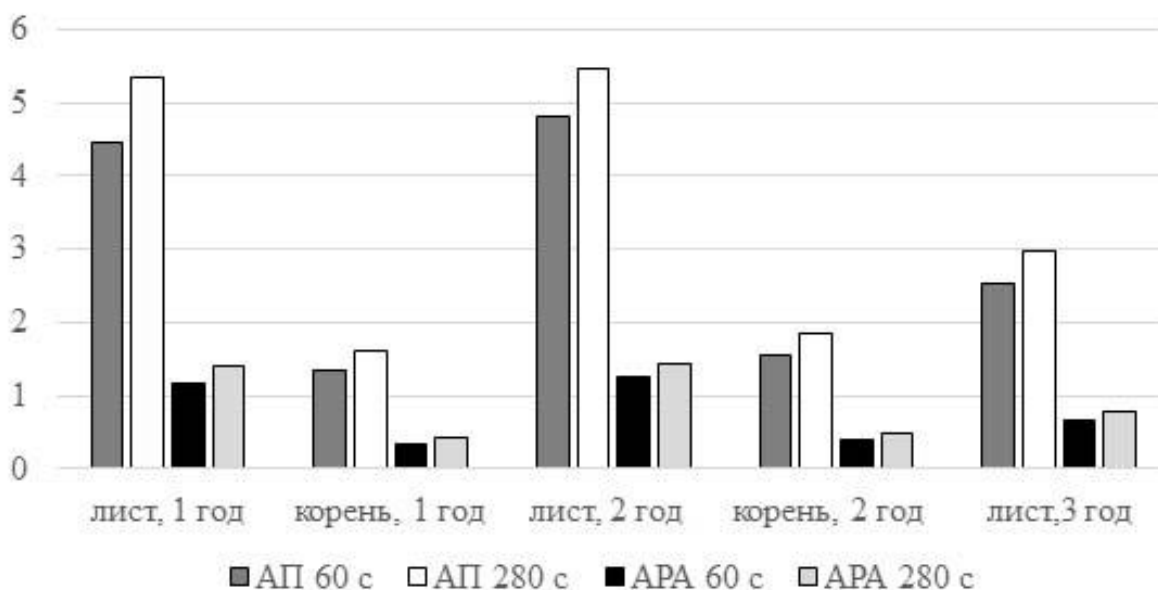


Рис. Антирадикальная активность экстрактов женьшеня, собранных в августе 2017 года.

Не удалось установить наличие корреляционной связи между содержанием фенольных соединений в экстрактах и проявляемой ими антирадикальной активностью. Это может свидетельствовать о том, что антирадикальные свойства обусловлены не только присутствием фенольных соединений в растениях женьшеня, но и соединениями другой природы, возможно,

основными биологически активными веществами женьшеня – гинзенозидами.

### Выводы

Проанализированы образцы листьев и корней женьшеня 1,2,3,5 годов вегетации из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Установлено, что экстракты ли-

ствьев женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) могут рассматриваться как достаточно эффективные антирадикальные агенты.

Антирадикальная активность экстрактов корней и листьев женьшеня значительно отличалась в зависимости от погодных условий вегетационного периода.

Экстракты корней женьшеня проявили значительно меньшую антирадикальную активность в сравнении с экстрактами листьев, что может быть связано как с меньшим количеством экстрактивных веществ, извлекаемых при вод-

но-этанольной экстракции, так и с их составом. Установлена корреляционная зависимость между содержанием экстрактивных веществ и проявляемой экстрактами антирадикальной активностью в пересчете на сухое растительное сырье, однако отсутствует корреляционная связь между содержанием фенольных соединений в экстрактах и проявлением антирадикальных свойств.

*Работа выполнена при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б16Р-083.*

### Литература

1. Голубева В.С., Романчук В.А., Гиль Т.В. Влияние плотности посева на качество рассады *Panax ginseng* С.А. Меу. *Теоретические и прикладные аспекты интродукции растений как перспективного направления развития науки и народного хозяйства: материалы Международной науч. конф., посвящ. 75-летию со дня образования ЦБС НАН Беларуси* (Минск, 12–15 июня 2007 г.). Минск: Эдит ВВ, 2007. Т. 1. С. 136–138.
2. Анощенко Б.Ю., Кухарева Л.В. Перспективы лекарственного и пряно-ароматического растениеводства. *Наука и инновации*. 2014. С. 15–17.
3. Jia Liu, Yang Liu, Long Zhao, Zhong-Hua Zhang, Zhong-Hua Tang. Profiling of ginsenosides in the two medicinal *Panax* herbs based on ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization–mass spectrometry. *Springerplus*. 2016. No. 5 (1). P. 1770.
4. Keum Y.S., Park K.K., Lee J.M., Chun K.S., Park J.H., Lee S.K., Kwon H., Surh Y.J. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett*. 2000. Vol. 150. P. 41–48.
5. Попов А.М. Механизмы биологической активности гликозидов женьшеня: сравнение с гликозидами голотурий. *Вестник ДВО РАН*. 2006. No. 6. С. 92–104.
6. Leung K.W., Wong A.S. Pharmacology of ginsenosides: a literature. *Chin Med*. 2010. Vol. 5. P. 20.
7. Совместная система экологической информации. Национальный статистический комитет Республики Беларусь. URL: <http://www.belstat.gov.by/ofitsialnaya-statistika/makroekonomika-i-okruzhayushchaya-sreda/okruzhayushchaya-sreda/sovmejnaya-sistema-ekologicheskoi-informatsii2> (дата обращения: 27.02.2018).
8. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999. Vol. 26. P. 1231–1237.
9. Ikawa M., Schaper T.D., Dollard C.A., Sasner J.J. Utilization of Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. *J. Agric. Food Chem*. 2003. Vol. 51. P. 1811–1813.
10. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 2 томах. Минск, 2012. Т. 1. С. 406.

### References

1. Holubeva V.S., Romanchuk V.A., Hyl' T.V. Influence of sowing density on the quality of seedlings *Panax ginseng* С.А. Меу. *Theoretical and applied aspects of plant introduction as a prospective direction for the development of science and the national economy: proceedings of the International Scientific Conference dedicated to the 75th anniversary of the foundation of the CBG of the National Academy of Sciences of Belarus* (Mynsk, 12–15 July 2007). Minsk: Эдыт ВВ, 2007. Vol. 1. P. 136–138.
2. Anoshenko B.Yu., Kukhareva L.V. Perspectives of medicinal and spicy aromatic plant growing. *Science and innovation*. 2014. P. 15–17.
3. Jia Liu, Yang Liu, Long Zhao, Zhong-Hua Zhang, Zhon-Hua Tang. Profiling of ginsenosides in the two medicinal *Panax* herbs based on ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *Springerplus*. 2016. No. 5 (1). P. 1770.
4. Keum Y.S., Park K.K., Lee J.M., Chun K.S., Park J.H., Lee S.K., Kwon H., Surh Y.J. Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett*. 2000. Vol. 150. P. 41–48.
5. Popov A.M. Mechanisms of biological activity of glycosides of ginseng: comparison with glycosides of holothurians *Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2006. No. 6. P. 92–104.
6. Leung K.W., Wong A.S. Pharmacology of ginsenosides: a literature. *Chin Med*. 2010. Vol. 5. P. 20.
7. Joint system of environmental information. National Statistical Committee of the Republic of Belarus. URL: <http://www.belstat.gov.by/ofitsialnaya-statistika/makroekonomika-i-okruzhayushchaya-sreda/okruzhayushchaya-sreda/sovmejnaya-sistema-ekologicheskoi-informatsii2> (Last accessed: 27.02.2018).
8. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999. Vol. 26. P. 1231–1237.
9. Ikawa M., Schaper T.D., Dollard C.A., Sasner J.J. Utilization of Folin-Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. *J. Agric. Food Chem*. 2003. Vol. 51. P. 1811–1813.
10. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. In 2 volumes. Minsk, 2012. Vol. 1. С. 406.

**RESHETNIKOV V.N., SHUTAVA H.G., SHYSH S.N., GIL T.V.**

*Central Botanical Gardens, NAS of Belarus,*

*Belarus, 220012, Minsk, Surganova str., 2v, e-mail: anna\_shutova@mail.ru*

**INFLUENCE OF VARIOUS FACTORS ON THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF *PANAX GINSENG* C. A. MEYER EXTRACTS**

**Aim.** The aim of the work was to evaluate the anti-radical activity of extracts of ginseng's underground and overground organs *Panax ginseng* C.A. Mey, depending on various factors – age of plants, collection time and cultivation conditions. **Methods.** Extracts obtained from various plant organs were evaluated in the model system with cation-radicals ABTS. At the same time, the amount of extractive substances and phenolic compounds was determined. **Results.** Samples of leaves and roots of ginseng of 1, 2, 3, 5, 9 years of vegetation from the collection of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus were analyzed. It is established that extracts of ginseng leaves of *P. ginseng* can be considered as sufficiently effective anti-radical agents. Anti-radical activity of extracts of roots and leaves of ginseng differed significantly depending on the weather conditions of the growing season. **Conclusions.** It is shown that extracts of ginseng leaves differ by the maximum antiradical activity. Extracts of ginseng roots showed a much lower anti-radical activity in comparison with leaf extracts, which may be due to both a smaller amount of extractives extracted from water-ethanol extraction and their composition.

**Keywords:** ginseng, antiradical activity, phenolic compounds, extractives.

**РЕШЕТНИКОВ В.М., ШУТОВА А.Г., ШИШ С.Н., ГИЛЬ Т.В.**

*ДНУ «Центральний ботанічний сад НАН Білорусі»,*

*Білорусь, 220012, м. Мінськ, вул. Сурганова, 2в, e-mail: anna\_shutova@mail.ru*

**ВПЛИВ РІЗНИХ ФАКТОРІВ НА АНТИРАДИКАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ *PANAX GINSENG* C. A. MEYER**

**Мета.** Метою роботи була оцінка антирадикальної активності екстрактів підземних і надземних органів женьшеню *Panax ginseng* C.A. Меу залежно від різних факторів – віку рослин, часу збору і умов культивування. **Методи.** Екстракти, отримані з різних органів рослин, оцінювали в модельній системі з катіон-радикалами АБТС. Паралельно визначали кількість екстрактивних речовин і фенольних сполук. **Результати.** Проаналізовано зразки листків і коренів женьшеню 1, 2, 3, 5 років вегетації з колекції Центрального ботанічного саду НАН Білорусі. Встановлено, що екстракти листків женьшеню справжнього можна розглядати як досить ефективні антирадикальні агенти. Антирадикальна активність екстрактів коренів і листків женьшеню значно відрізнялася залежно від погодних умов вегетаційного періоду. **Висновки.** Показано, що максимальною антирадикальною активністю вирізняються екстракти листків женьшеню. Екстракти коренів женьшеню проявили значно меншу антирадикальну активність порівняно з екстрактами листків, що може бути пов'язано як з меншою кількістю екстрактивних речовин, що вилучаються за водно-етанольної екстракції, так і з їхнім складом.

**Ключові слова:** женьшень, антирадикальна активність, фенольні сполуки, екстрактивні речовини.