

Zawartość i skład ginsenozydów w różnych organach żeń-szenia pięciolistnego (*Panax quinquefolium* L.)

AGNIESZKA LUDWICZUK¹, BARBARA KOŁODZIEJ²,
TADEUSZ WOLSKI^{1,3}

¹Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Akademia Medyczna im. Prof. F. Skubiszewskiego, ul. Chodźki 1, 20 093 Lublin,

²Katedra Roślin Leczniczych i Przemysłowych, Akademia Rolnicza, ul. Akademicka 15, 20 950 Lublin,

³Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, Akademia Rolnicza, ul. Leszczyńskiego 58, 20 068 Lublin

¹Department of Pharmacognosy with Medicinal Plant Laboratory, Skubiszewski Medical University, 1 Chodźki Street, 20 093 Lublin, Poland;

²Department of Industrial and Medical Plants, University of Agriculture, 15 Akademicka Street, 20 950 Lublin, Poland

³Department of Vegetable and Medicinal Plant, University of Agriculture, 58 Leszczyński Street, 20 068 Lublin, Poland

The content and the composition of ginsenosides in different parts of American ginseng (*Panax quinquefolium* L.)

(Otrzymano: 7.06.2005)

S u m m a r y

Percentage of ginsenosides in roots of American ginseng is ranged from 6.5 to 12.5%. 4-year-old roots are characterized by the highest content of ginsenosides. The highest amount of ginsenosides was found in ginseng leaves (24.8–37.5%). Stems and fruits of *Panax quinquefolium* are characterized by much lower content of saponins. Maximum level of ginsenosides, in case of leaves, stems and fruits, was observed in 4-year-old organs. The results show, that Polish ginseng for medicinal uses should be harvested from fourth year of plant vegetation. Qualitative TLC analysis showed presence of the same ginsenosides in the same ginseng organs in different age of plants. In ginseng roots were identified 6 compounds: Rb₁, Re, Rc, Rd, Rg₁ and Rg₂, in leaves 7: Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rd, Rg₁ and Rg₂; in stems 6 ginsenosides: Rb₁, Rc, Re, Rd, Rg₁ and Rg₂, instead in fruits 5 compounds: Rb₂, Re, Rd, Rg₁ and Rg₂.

Key words: *Panax quinquefolium*, American ginseng, ginsenosides, quantitative analysis, thin layer chromatography (TLC)

WSTĘP

Żeń-szeń jest rośliną znaną człowiekowi i stosowaną w celach leczniczych od tysięcy lat. Mimo, że dawno minęły czasy, gdy cena korzenia żeń-szenia dorównywała wartości złota, nadal jest on surowcem cenionym ze względu na swą wartość leczniczą. Intensywna eksploatacja stanowisk naturalnych żeń-szenia spowodowała, że podjęto próby jego uprawy. Obecnie prawie cały surowiec będący w obrocie pochodzi z uprawy. Od kilku lat, również w ośrodku lubelskim, prowadzone są badania nad uprawą żeń-szenia amerykańskiego (*Panax quinquefolium* L.) Z uwagi na to, że żeń-szeń jest rośliną wymagającą odpowiednich warunków glebowych i klimatycznych, jego uprawa jest kosztowna i czasochłonna (Berbeć i Dziedzic, 1996; Kołodziej, 2003; Kołodziej i Berbeć, 2004).

Głównymi związkami biologicznie czynnymi żeń-szenia, są ginsenozydy, które odpowiadają za działanie lecznicze żeń-szenia. Za jakość i efekty biologiczne surowca odpowiedzialna jest nie tylko ilość ginsenozydów, ale również ich wzajemne proporcje. Każdy z ginsenozydów występujących w żeń-szeniu jest odrębnie działającą substancją biologicznie czynną, która wywiera swoisty (niekiedy przeciwstawny do pozostałych) oraz wielokierunkowy wpływ na organizm ludzki (Shibata i in., 1985; Attle i in., 1999). Działanie lecznicze ginsenozydów polega na zwiększeniu zdolności hemoglobiny do przyłączania tlenu, a tym samym lepszego zaopatrywania narządów w ten pierwiastek. W konsekwencji wzrasta ilość energii i zdolność organizmu do wysiłku zarówno fizycznego jak i umysłowego. Ginsenozydy dzięki pobudzaniu układu immunologicznego powodują także wzrost odporności na infekcje bakteryjne i wirusowe oraz przyspieszają okres rekonwalescencji (WHO, 1999; Necerino i in., 2000).

Od kilku lat w ośrodku lubelskim prowadzone są także badania nad składem chemicznym w ontogenezie żeń-szenia pięciolistnego (*Panax quinquefolium* L.) (Ludwiczuk, 2005).

Celem podjętych badań była zawartość i skład ginsenozydów występujących w korzeniach, liściach, łodygach i owocach żeń-szenia pięciolistnego uprawianego w warunkach klimatycznych Lubelszczyzny. Surowce do badań pochodziły z roślin będących w różnych fazach rozwoju ontogenetycznego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły organy podziemne (korzenie) i nadziemne (liście, łodygi, owoce) żeń-szenia pięciolistnego (*Panax quinquefolium* L.) uprawianego w Katedrze Roślin Leczniczych i Przemysłowych Akademii Rolniczej w Lublinie. Surowiec pozyskiwano z roślin jednorocznych, dwu-, trzy- i czteroletnich w roku 2003.

Analiza wstępna badanych surowców obejmowała oznaczenie straty masy po suszeniu. Oznaczenie wykonano metodą wagową zgodnie z FP V (1995) i FP VI (2002).

Oznaczenie zawartości procentowej sumy ginsenozydów prowadzono metodą spektrofotometryczną (Farmakopea Niemiecka, 1992). Odważono po około 0,15g korzeni, 0,1g liści, 0,5g łodyg i 0,3g owoców. Zawartość procentową ginsenozydów podano w przeliczeniu na ginsenozyd Rg₁.

Fracje ginsenozydów z części podziemnych i nadziemnych żeń-szenia wyodrębniono w wyniku wytrząsania 50% wodnym roztworem metanolu. Uzyskane w ten sposób ekstrakty analizowano metodą TLC na płytkach szklanych lub foliach aluminiowych pokrytych żelazem krzemionkowym G i GF₂₅₄. Płytki rozwijano w komorach płaskich typu DS, na dystansie 17 cm przy użyciu fazy ruchomej: chloroform octan etylu metanol woda, 15+40+22+9 (v/v). Chromatogramy wywoływano przez spryskiwanie odczynnikami Godina (5% roztwór H₂SO₄ w etanolu i 1% roztwór waniliny w etanolu) i ogrzewano w temperaturze 105°C przez 10 minut (Ludwiczuk i Wołski, 2003).

WYNIKI

Dane dotyczące straty masy po suszeniu w organach podziemnych i nadziemnych żeń-szenia pięciolistnego w I, II, III, IV roku wegetacji przedstawia tabela 1.

Z danych przedstawionych w tabeli 1 wynika, że największą zawartością wilgoci charakteryzują się korzenie, dla których waha się ona w granicach 7,8% (korzeń 1-letni) do 8,6% (korzeń 4-letni). W przypadku części nadziemnych rośliny strata masy po suszeniu mieści się w granicach:

liście	6,9% (1-letnie)	7,9% (2-letnie)
łodygi	6,7% (3-letnie)	7,6% (2-letnie)
owoce	5,8% (3-letnie)	6,1% (2-letnie).

Tabela 1

Procentowa zawartość wilgoci w różnych organach *Panax quinquefolium* L. (SD dla n=3).

Table 1

Percentage content of the moisture in different parts of *Panax quinquefolium* L. (SD for n=3).

Rok wegetacji Vegetation year	Zawartość wilgoci [%] Moisture content [%]			
	Korzeń Root	Liść Leaf	Łodyga Stem	Owoc Fruit
I	7,79 ± 0,01	6,89 ± 0,02	6,87 ± 0,11	-
II	8,23 ± 0,05	7,92 ± 0,06	7,57 ± 0,09	6,14 ± 0,01
III	7,89 ± 0,03	7,39 ± 0,01	6,69 ± 0,08	5,78 ± 0,01
IV	8,57 ± 0,03	7,47 ± 0,06	6,86 ± 0,05	6,03 ± 0,02

Tabela 2

Zawartość sumy ginsenozydów w przeliczeniu na ginsenozyd Rg₁ w różnych organach żeń szenia amerykańskiego (SD for n=4).

Table 2

Percentage content of ginsenosides recalculated onto ginsenoside Rg₁ in different parts of American ginseng (SD for n=4).

Rok wegetacji Vegetation year	Zawartość ginsenozydów [%] Ginsenosides content [%]			
	Korzeń Root	Liść Leaf	Łodyga Stem	Owoc Fruit
I	6,550 ± 0,468	33,750 ± 1,183	5,150 ± 0,145	-
II	8,552 ± 0,465	25,498 ± 1,211	4,785 ± 0,071	3,685 ± 0,406
III	7,325 ± 0,212	24,815 ± 0,524	3,978 ± 0,276	3,288 ± 0,191
IV	12,530 ± 0,063	37,505 ± 0,361	5,620 ± 0,192	3,385 ± 0,384

Tabela 3

Wyniki analizy TLC ginsenozydów występujących w częściach nadziemnych i podziemnych żeń szenia pięciolistnego w IV roku wegetacji.

Table 3

Results from TLC analysis of ginsenosides occurring in 4 year old aerial and underground parts of American ginseng.

Zidentyfikowany związek Identified compound	Korzenie Roots	Liście Leaves	Łodygi Stems	Owoce Fruits
Rb ₁	++	+	+	-
Rb ₂	+/-	+	-	+
Rc	+	+	+	-
Re	+	+	+	+
Rd	++	++	+	+
Rg ₁	+	+	+	+
Rf	-	-	-	-
Rg ₂	+	++	++	++

Intensywność barwy plamy: ++ duża; + średnia; +/- bardzo mała intensywność lub brak plamy; związku nie wykryto

Intensity of spot colour: ++ high intensity; + medium intensity; +/- very low intensity or absence of spot; lack of compound

Największą zawartością wilgoci charakteryzują się liście, łodygi i owoce w drugim roku wegetacji. Z tabeli 1 wynika również, że zmianę zawartości wilgoci w poszczególnych organach żeń-szenia pięciolistnego w każdym roku wegetacji można uszeregować następująco: *korzenie* > *liście* ≥ *łodygi* > *owoce*.

Dane dotyczące zawartości ginsenozydów w przeliczeniu na ginsenozyd Rg₁ w organach nadziemnych i podziemnych w ontogenezie *Panax quinquefolium* przedstawia tabela 2.

Jak wynika z tabeli 2 procentowa zawartość ginsenozydów w przeliczeniu na suchą masę w korzeniach żeń-szenia pięciolistnego waha się w granicach 6,5% dla korzenia 1-rocznego do 12,5% dla korzenia 4-letniego. Stanowi to prawie 2-krotny wzrost zawartości ginsenozydów w trakcie rozwoju rośliny. Interesująco przedstawia się zawartość ginsenozydów w częściach nadziemnych *Panax quinquefolium* L. Podczas gdy w łodygach i owocach waha się ona w granicach od ok. 3,3% do 5,6%, to w liściach zawartość ginsenozydów jest kilkakrotnie większa i mieści się w granicach od 24,8% do 37,5%.

Zmiany zawartości ginsenozydów w ontogenezie żeń-szenia pięciolistnego dla poszczególnych organów można przedstawić następująco:

liście	:	[I > II > III] < IV
korzenie	:	[I < II > III] < IV
łodygi	:	[I > II > III] < IV
owoce	:	II > III < IV → II > IV

gdzie: I, II, III i IV kolejne lata uprawy.

Z przedstawionych danych wynika, że wszystkie organy w IV roku uprawy żeń-szenia pięciolistnego, za wyjątkiem owoców, charakteryzują się największą zawartością ginsenozydów.

Badania TLC nad obecnością ginsenozydów w częściach nadziemnych (liście, łodygi i owoce) oraz podziemnych (korzeniach) żeń-szenia amerykańskiego (*Panax quinquefolium* L.) w I, II, III i IV roku wegetacji wykazały, że w tych samych organach żeń-szenia, w różnym okresie rozwoju rośliny, występują te same ginsenozydy. Wyniki analizy jakościowej ginsenozydów występujących w korzeniach, liściach, łodygach i owocach roślin 4-letnich przedstawia tabela 3.

W wyniku analizy TLC w korzeniach *Panax quinquefolium* zidentyfikowano 6 ginsenozydów tj.: Rb₁, Re, Rc, Rd, Rg₁ i Rg₂, w liściach 7 związków: Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂; w przypadku łodyg zidentyfikowano 6 związków: Rb₁, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂, natomiast w owocach 5 związków: Rb₂, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂. Z danych tych wynika, że związkami, które są obecne we wszystkich badanych organach żeń-szenia pięciolistnego, są ginsenozydy Re, Rd, Rg₁ i Rg₂. Analiza TLC wykazała również brak ginsenozydu Rf we wszystkich badanych organach *Panax quinquefolium*.

DYSKUSJA

Na podstawie doniesień piśmiennictwa, żeń-szeń do celów leczniczych powinien być uprawiany od 4 do 6 lat (Kim i in., 1981; Berbeć i Dziedzic, 1996; Sticher, 1998; Kołodziej i Berbeć, 2004). Od czwartego roku wegetacji obserwuje się bowiem największe przyrosty masy korzeni, które mogą osiągać masę nawet do 50g, podczas gdy korzenie jednoroczne ważą ok. 1 g. Według badań naukowców japońskich (Samukawa i in., 1995), w przypadku żeń-szenia prawdziwego (*Panax ginseng*), zawartość głównych związków biologicznie czynnych żeń-szenia (ginsenozydów), rośnie wraz z rozwojem rośliny do trzeciego roku wegetacji. W czwartym roku uprawy żeń-szenia następuje spadek zawartości panaksozydów, natomiast od piątego roku ponowny ich wzrost. Surowiec powinno się więc zbierać począwszy od piątego roku wegetacji.

Według Peigena (1989) zawartość saponin w korzeniach wzrasta wraz z wiekiem rośliny, natomiast łodygi, liście, kwiaty i owoce zawierają więcej ginsenozydów w porównaniu do korzenia. Badania Ma i in. (1990) wykazały, iż zawartość ginsenozydów w organach nadziemnych *Panax quinquefolium* jest kilkakrotnie wyższa, niż w organach podziemnych – w korzeniu waha się w granicach od 3,24% do 4%, zaś w częściach nadziemnych od 14,72% do 16,72%. Badania Kochan i wsp. (2004) nad zawartością ginsenozydów w korzeniach, liściach, łodygach i nasionach żeń-szenia pięciolistnego wykazały, że największą zawartością saponozydów charakteryzują się korzenie (do 67 mg×g⁻¹ suchej masy) oraz liście (ponad 30 mg×g⁻¹). W łodygach i nasionach żeń-szenia związki te występowały w minimalnych ilościach odpowiednio 2 i 5 mg×g⁻¹.

Badania własne nad zawartością ginsenozydów w ontogenezie żeń-szenia pięciolistnego uprawianego w warunkach klimatycznych Lubelszczyzny przeprowadzono metodą spektrofotometryczną opisaną w Farmakopei Niemieckiej DAB 10 (1991). Analiza wykazała, że zawartość ginsenozydów w korzeniach żeń-szenia amerykańskiego mieści się w granicach od 6,5% do 12,5% i rośnie wraz z rozwojem rośliny, osiągając wartość najwyższą w IV roku wegetacji żeń-szenia. W liściach zawartość ginsenozydów waha się w granicach od 24,8% do 37,5%, natomiast w łodygach i owocach jest kilkakrotnie mniejsza i zawiera się w granicach od 3,3% do 5,6%. Największą zawartością ginsenozydów charakteryzują się 4-letnie organy nadziemne żeń-szenia amerykańskiego. Z przeprowadzonych badań wynika, że polski żeń-szeń do celów leczniczych powinno się zbierać od czwartego roku wegetacji roślin (Ludwiczuk, 2005).

Żeń-szeń pięciolistny (*Panax quinquefolium* L.) jest bardzo podobny do żeń-szenia właściwego (*Panax ginseng* C.A. Meyer) zarówno, jeżeli chodzi o wygląd roślin (w szczególności korzeni) jak i o skład ginsenozydów. Oba gatunki można jednak odróżnić. Według Farmakopei Europejskiej (2001) żeń-szeń amerykański nie posiada w swoim składzie ginsenozydu Rf w przeciwieństwie do żeń-szenia azjatyckiego. Analiza TLC wobec wzorcowego ginsenozydu Rf pozwala na rozróżnienie obu surowców czy też preparatów z nich otrzymanych.

Przeprowadzone przez nas badania jakościowe i ilościowe ginsenozydów występujących w częściach podziemnych i nadziemnych *Panax quinquefolium* nie wykazały obecności w żadnym z badanych organów żeń-szenia pięciolistnego ginsenozydu Rf (Ludwiczuk, 2005).

WNIOSKI

1. Wstępna analiza surowca dotycząca straty masy po suszeniu wykazała, że organy podziemne *Panax quinquefolium* charakteryzują się nieco większą zawartością wilgoci. Z przeprowadzonych badań wynika, że zawartość wilgoci w korzeniach jest najwyższa w przypadku roślin 4-letnich, zaś w częściach nadziemnych dla roślin 2-letnich.

2. Zawartość procentowa sumy ginsenozydów w częściach nadziemnych, oznaczona metodą spektrofotometryczną, maleje do trzeciego roku wegetacji by osiągnąć wartość największą dla roślin 4-letnich. Zawartość ginsenozydów w korzeniach waha się w granicach od 6,5% do 12,5% suchej masy i rośnie wraz z wiekiem rośliny.

3. Analiza jakościowa ginsenozydów metodą TLC wykazała, że w tych samych organach żeń-szenia, w różnym okresie rozwoju rośliny, występują te same ginsenozydy. W wyniku analizy TLC w korzeniach zidentyfikowano 6 ginsenozydów: Rb₁, Re, Rc, Rd, Rg₁ i Rg₂, w liściach 7 związków: Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂; w przypadku łodyg zidentyfikowano 6 związków: Rb₁, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂, natomiast w owocach 5 związków: Rb₂, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂.

4. Analiza chromatograficzna frakcji ginsenozydów obecnych w częściach podziemnych i nadziemnych *Panax quinquefolium* nie wykazała obecności ginsenozydu Rf w żadnym z badanych organów żeń-szenia, co może być cechą chemotaksonomiczną.

LITERATURA

- Attele A. S., Wu J.A., Yuan C.S., 1999. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* 58 (11): 1685 1693.
- Berbec S., Dziedzic M., 1996. Uprawa żeń szenia amerykańskiego. Wyd. Akad. Roln., Lublin, pp. 60.
- Farmakopea Europejska, European Pharmacopoeia Supl., 2001. pp. 887 889.
- Farmakopea Niemiecka, DAB 10, 1991. Ginseng radix.
- Farmakopea Polska V, 1995. tom 1, Supl. PTFarm, Warszawa.
- Farmakopea Polska VI, 2002. PTFarm, Warszawa.
- Kim S. K., Sakamoto I., Morimoto K., Sakata M., Yamasaki K., Tanaka O., 1981. Seasonal variation of saponins, sucrose and monosaccharides in cultivated ginseng roots. *Planta Med.* 42: 181 186.
- Kochan E., Kołodziej B., Gadomska G., Chmiel A., 2004. Content of ginsenosides in *Panax quinquefolium* from field cultivation. *Herba Pol.* 50 (1): 20 27.
- Kołodziej B., 2003. Studia nad wzrostem, rozwojem oraz uprawą żeń szenia amerykańskiego (*Panax quinquefolium* L.). *Rozprawa habilitacyjna*. Wyd. Akad. Roln. Lublin, pp. 103.
- Kołodziej B., Berbec S., 2004. Badania nad uprawą żeń szenia amerykańskiego (*Panax quinquefolium* L.) [W:] Wybrane problemy produkcji roślinnej na Lubelszczyźnie, S. Berbec, Sz. Dziamba (Eds.), Wyd. Akad. Roln. Lublin, pp. 62 66.
- Ludwiczuk A., Wolski T., 2003. Estimation of the content and composition of ginsenosides occurring in extracts from American ginseng and Asian ginseng. *Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska, sect. EEE. Hortic.* 7: 53 58.

- Ludwiczuk A., 2005. Badania składu chemicznego w ontogenezie żeń-szenia amerykańskiego (*Panax quinquefolium* L.). Rozprawa doktorska, AM, Lublin.
- Ma X., Lu R., Song J., Chen Z., 1990. Effects of concentration and ratio of N, P and K on seedlings of *Panax quinquefolium* L. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 15 (2): 78-81.
- Necerino E., Amato M., Izzo A. A., 2000. The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng. *Fitoterapia*, 71 (1 Suppl): 51-55.
- Peigen X., 1989. General status on ginseng research in China. *Herba Pol.* 35 (1): 69-72.
- Samukawa K., Yamashita H., Matsuda H., Kubo M., 1995. Simultaneous analysis of ginsenosides of various Ginseng radix by HPLC. *Yakugaku Zasshi*, 115 (3): 241-249.
- Shibata S., Tanaka O., Shojii J., Saito H., 1985. Chemistry and pharmacology of *Panax*. [In:] *Economic and Medicinal Plant Research*, Vol.1. H. Wagner, H. Hikino and N.R. Farnsworth (Eds.) Orlando, Fla: Academic Press pp. 218-284.
- Sticher O., 1998. Getting to the root of ginseng. *CHEMTECH*, 28 (4): 26-32.
- WHO monographs on selected medicinal plants., 1999. Radix Ginseng, vol.1, World Health Organization, Geneva, pp. 168-182.

Streszczenie

Badania wykazały, że zawartość ginsenozydów w korzeniach żeń-szenia amerykańskiego mieści się w granicach od 6,5% do 12,5% i rośnie wraz z rozwojem rośliny, osiągając wartość najwyższą w IV roku wegetacji żeń-szenia. W liściach zawartość ginsenozydów waha się w granicach od 24,8% do 37,5%, natomiast w łodygach i owocach jest kilkakrotnie mniejsza i zawiera się w granicach od 3,3% do 5,6%. Największą zawartością ginsenozydów charakteryzują się 4-letnie organy nadziemne żeń-szenia amerykańskiego. Z przeprowadzonych badań wynika, że polski żeń-szeń do celów leczniczych powinno się zbierać począwszy od czwartego roku wegetacji roślin. W wyniku analizy TLC w korzeniach zidentyfikowano 6 ginsenozydów: Rb₁, Re, Rc, Rd, Rg₁ i Rg₂, w liściach 7 związków: Rb₁, Rb₂, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂; w przypadku łodyg zidentyfikowano 6 związków: Rb₁, Rc, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂, natomiast w owocach 5 związków: Rb₂, Re, Rd, Rg₁ i Rg₂. Przeprowadzone badania jakościowe ginsenozydów występujących w częściach podziemnych i nadziemnych *Panax quinquefolium* nie wykazały obecności w żadnym z badanych organów żeń-szenia pięciolistnego ginsenozydu Rf.