

ИЗУЧЕНИЕ КУРКУМИНОИДНОГО КОМПЛЕКСА КОРНЕВИЩ КУРКУМЫ ДЛИННОЙ

В.А. Куркин¹, доктор фармацевтических наук, профессор,
Е.В. Авдеева¹, доктор фармацевтических наук, профессор,
М.Ю. Борисов¹, **Т.К. Рязанова**¹, кандидат фармацевтических наук,
В.М. Рыжов¹, кандидат фармацевтических наук,
Н. Гиварш², доктор биологических наук, профессор,
О.В. Сазонова¹, доктор медицинских наук

¹Самарский государственный медицинский университет;
Российская Федерация, 443099, Самара, ул. Чапаевская, д. 89;

²Университет им. Франсуа Рабле,
г. Тур, Франция, Parc de Grandmont, 37200, Tours, France

Введение. Куркума длинная (*Curcuma longa* L.) – многолетнее травянистое растение семейства имбирных (*Zingiberaceae*), корневища которого широко известны как пряность и традиционный продукт питания в странах Юго-Восточной Азии и Индии, а также как популярное лекарственное растение.

Цель исследования – изучение химического состава куркуминоидного комплекса корневищ куркумы длинной, выращенной на территории Северного Кавказа.

Материал и методы. Объектами исследования служили корневища куркумы длинной, выращенной на территории Северного Кавказа, заготовленные в 2007 и 2008 гг., и коммерческие образцы сырья из Индии и Вьетнама. В ходе исследования использовали: тонкослойную хроматографию – ТСХ (пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ»), колоночную хроматографию (силикагель марки L 40/100, элюентные смеси: гексан – хлороформ в различных соотношениях), спектрофотометрию, ИК-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР- спектроскопию и масс-спектроскопию.

Результаты. Из корневищ куркумы выделены три доминирующих куркуминоида – куркумин, дезметоксикуркумин, бисдезметоксикуркумин, подтверждена их структура с использованием УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также установлены физико-химические константы. Для куркумина, рассматриваемого в качестве отечественного стандартного образца, предложена схема выделения (выход от массы воздушно-сухого сырья: 0,6–0,7%).

Заключение. Выявлена стабильность химического состава куркуминоидного комплекса и соотношения содержания доминирующих компонентов для дикорастущих и культивируемых образцов корневищ куркумы длинной.

Ключевые слова: куркума длинная, *Curcuma longa* L., корневища, химический состав, куркуминоиды, структурные методы анализа, физико-химические свойства, стандартные образцы.

E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Куркума длинная (*Curcuma longa* L.), – многолетнее травянистое растение семейства имбирных – *Zingiberaceae*, корневища которого широко известны как пряность и традиционный продукт питания в странах Юго-Восточной Азии и Индии, а также как лекарственное средство. Пищевая и лекарственная ценность куркумы в основном обусловлена высоким содержанием куркуминоидов (от 1,5 до 5,0% и выше), придающих ярко-желтый цвет корневищам куркумы. По химической структуре это фенольные соединения – производные дициннамоилметана (см. таблицу), часто обозначаемые единым термином «куркумин», под которым подразумевается суммарная фракция, получаемая при производстве пище-

вого красителя «турмерик». По данным большинства источников литературы, соотношение доминирующих куркуминоидов следующее: 77% куркумина, 18% дезметоксикуркумина и 5% бисдезметоксикуркумина [1]. Другой группой действующих веществ являются терпеноиды.

Куркумин, доминирующее соединение группы, впервые был выделен из корневищ куркумы в 1815 г., а 1-й вариант его структуры был предложен в 1910 г. С тех пор в мировой литературе опубликованы многочисленные результаты изучения различных субстанций из куркумы: от измельченного сырья, смеси куркуминоидов разной степени очистки до индивидуальных веществ и их различных производных. Спектр выявленной активности обширен и актуален: антибактериальное, противовоспалительное, гипогликемическое, антиоксидантное, раноза-

живляющее, желчегонное, противоопухолевое действие и др. [2–5].

Корневища куркумы включены в Фармакопею КНР и Растительную фармакопею США. В нашей стране официальным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) корневища куркумы не являются. Отечественные исследователи из Пятигорска первыми приступили к комплексному решению проблемы – от изучения возможности интродукции на территории Российской Федерации до установления норм качества [6,7]. Для последующего углубленного изучения химического состава корневищ куркумы длинной кафедрой фармакогнозии Пятигорской фармацевтической академии (в настоящее время – филиал ВолгГМУ Минздрава России) в Самарский государственный медицинский университет были представлены образцы сырья культивируемых растений, заготовленные в 2007 и 2008 г. на территории Северного Кавказа.

Цель исследования – изучение химического состава комплекса куркуминоидов корневищ куркумы длинной, выращенной на территории Северного Кавказа. В задачи исследования входили фитохимический анализ сырья куркумы длинной (в сравнении с образцами сырья природных ареалов произрастания), установление структуры и изучение физико-химических характеристик выделенных индивидуальных веществ, разработка способа получения отечественного стандартного образца куркумина и определение параметров его качества.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили цельные корневища куркумы длинной, выращенной на территории Северного Кавказа, заготовленные в 2007 и 2008 гг. с содержанием суммы куркуминоидов 2,4%; порошок корневищ куркумы, используемый в качестве приправы к пище, фирмы «Сукориа S.A.» (Вьетнам) с содержанием суммы куркуминоидов 1,9% и

фирмы «Patanjali Ayurved» (Индия) с содержанием суммы куркуминоидов 3,2%. Качественное и количественное определение куркуминоидов, проведенное ранее, а также результаты скрининговой оценки широкого круга коммерческих образцов корневищ куркумы, представленных на отечественном рынке, позволили рекомендовать в качестве нижнего предела содержания суммы куркуминоидов в ЛРС: не менее 1,5 %.

В ходе исследования использовали следующие методы: тонкослойная хроматография – ТСХ («Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ»), колоночная хроматография (силикагель марки L 40/100 мкм, элюентные смеси: гексан – хлороформ в различных соотношениях), спектрофотометрия (спектрофотометры «Specord 40» фирмы «Analytik Jena» и «Heliosa» фирмы «Thermo Spectronic Company» в диапазоне длин волн от 200 до 600 нм), ¹H-ЯМР- и ¹³C-ЯМР-спектроскопия (ЯМР-спектрометр «Bruker AM 300», 300 МГц), масс-спектрометрия (Kratos MS-30 (UK) 70 eV T=200°C), ИК-спектроскопия (ИК-Фурье-спектрометр «Nikolet iS10» фирмы «Thermo Spectronic Company», диапазон длин волн от 4000 до 600 см⁻¹ с разрешением в 0,4 см⁻¹).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для препаративного выделения и очистки куркуминоидов методом циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета из 50,0 г порошка корневищ куркумы (размер частиц до 0,5 мм) с использованием 96% этилового спирта, подкисленного 0,1М хлороводородной кислотой в соотношении 1 мл раствора кислоты на 100 мл экстрагента (для стабильности куркуминоидов) было получено суммарное извлечение. После отгонки на вакуумном роторном испарителе извлечения до половинного объема, упаренный экстракт высушивали при перемешивании на 4,0 г силикагеля марки L 40/100 мкм (Чехия).

ХАРАКТЕРИСТИКА ДОМИНИРУЮЩИХ КУРКУМИНОИДОВ

Название (тривиальное, химическое по номенклатуре IUPAC)	Химическая структура, брутто-формула, молярная масса	Описание, физико-химические константы
Куркумин (1), диферулоилметан; 1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)	<chem>Cc1ccc(O)cc1/C=C/C(=O)C(=O)/C=C/c1ccc(O)c(OC)c1</chem> C ₂₁ H ₂₀ O ₆ М.м. 368,38	Порошок оранжевого цвета. λ _{max} (EtOH) 425 нм ± 3 нм; т. пл. 183°C ± 3°C
Дезметоксикуркумин (2), 4-гидроксициннамоилметан; 1-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-7-(4-гидроксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)	<chem>Cc1ccc(O)cc1/C=C/C(=O)C(=O)/C=C/c1ccc(O)c(OC)c1</chem> C ₂₀ H ₁₈ O ₅ М.м. 338,35	Порошок желтого цвета. λ _{max} (EtOH) 44 нм ± 3 нм; т. пл. 172 °C ± 3°C
Бисдезметоксикуркумин (3), бис (4-гидроксициннамоил); 1,7-бис(4-гидроксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)	<chem>Oc1ccc(O)cc1/C=C/C(=O)C(=O)/C=C/c1ccc(O)c(OC)c1</chem> C ₁₉ H ₁₆ O ₄ М.м. 308,33	Порошок желтого цвета. λ _{max} (EtOH) 420 нм ± 3 нм; т. пл. 222 °C ± 3°C

Силикагель с нанесенным суммарным извлечением наслаивали на слой силикагеля 6,0 г, сформированный в хроматографической колонке с диаметром 25 мм в виде взвеси в *n*-гексане. Далее осуществляли элюирование БАС смесями растворителей *n*-гексан – хлороформ в различных соотношениях (100:0 → 0:100). Контроль за ходом хроматографического разделения осуществляли методом ТСХ в системе растворителей хлороформ–этиловый спирт (19:1) с детектированием при дневном и УФ-свете с длиной волны 254 и 366 нм.

Фракции, полученные на *n*-гексане, позволили компактно элюировать группу БАС терпеноидной природы (с доминированием α -турмерона по данным газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии – ГЖХ/МС), которые были подвергнуты отдельному исследованию (в настоящей работе эти результаты не обсуждаются). Фракции, полученные при дальнейшем элюировании смесью растворителей хлороформ – *n*-гексан (10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50), содержали разнообразные липофильные моно- и дифенилгептаноиды (на основании данных ¹H-ЯМР и масс-спектров).

Дальнейшее элюирование позволило разделить группу целевых веществ – куркуминоидов (рис. 1). Фракции, полученные с использованием смеси рас-

творителей хлороформ – *n*-гексан (60:40), содержали технический куркумин и были дополнительно очищены рехроматографией на силикагеле марки L 40/100 мкм и перекристаллизацией из спирта этилового 96%.

В результате было получено 0,34 г стандартного образца (СО) куркумина, структура которого подтверждена комплексом структурных методов анализа (рис. 2–4), а также установлены физико-химические характеристики с использованием традиционного набора инструментальных методов анализа.

Фракции, полученные при элюировании смесью растворителей хлороформ – *n*-гексан (80:20), содержащие дезметоксикуркумин, были дополнительно очищены перекристаллизацией из 96% этилового спирта. Фракции, элюированные смесью растворителей хлороформ – *n*-гексан (90:10), содержащие бисдезметоксикуркумин, были очищены аналогичным образом. Их структура и физико-химические константы были изучены аналогично куркумину.

Важно отметить, что выход индивидуальных веществ – доминирующих куркуминоидов соответствует данным литературы по соотношению куркумина, дезметоксикуркумина и бисдезметоксикуркумина и в среднем составляет 80:15:5 соответственно.

Структура куркумина [1,6-гептадиен-3,5-дион-1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)] была установлена на основании данных ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-, ИК- и масс-спектров. Так, в спектре протонного магнитного резонанса обнаруживаются шести-протонный синглетный сигнал 2 метоксильных групп при 3,84 м.д. и уширенный синглетный сигнал 2 ароматических групп -ОН при 9,65 м.д. фенольных фрагментов молекулы, а также в сигналы протонов гептадиенового фрагмента (см. рис. 2). В пользу данной структуры также свидетельствуют данные ¹³C-ЯМР-спектра с сигналами 2 ОСН₃-групп при 56,2179 м.д. и С-4 при 101,4313, а также масс-спектра, где обнаруживается пик молекулярного иона с *m/z* 368 (см. рис. 3). В ИК-спектре куркумина наблюдается характерная зона поглощения гидроксильных при 3468,5 см⁻¹, а также сигналы, характерные для С=О, С=C групп.



Рис. 1. Схема выделения куркуминоидов и получение СО-куркумина

^1H -ЯМР- и масс-спектры РСО куркумина были сопоставлены с данными фирмы «Sigma-Aldrich» (США) (www.sigmaaldrich.com) и базой «Human Metabolome Database» Version 2.5 (Канада) (www.hmdb.ca) и совпали с таковыми.

Аналогичным образом были установлены структуры 2 других куркуминоидов – дезметоксикуркумина и бисдезметоксикуркумина, структурной особенностью которых является отсутствие 1 или 2 метоксильных групп соответственно.

Куркумин [(1,7-бис(4-гидрокси-3-метоксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)] –

оранжевый мелкокристаллический порошок состава $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{16}$ с т. пл. 182–184 °С, λ_{max} (EtOH) 425 нм. Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): M^+ 368 (100%).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , δ (м.д.), 300 МГц): 3,84 (с, 6H, 2 • OCH_3), 6,05 (с, 1H, H-4), 6,73 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-2,6), 6,80 (д, 2H, $J=2$ и 9 Гц, H-6',6''), 7,14 (д, 2H, $J=9$ Гц, H-5',5''), 7,32 (д, 2H, $J=2$ Гц, H-2', 2''), 7,53 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-1,7), 9,65 (с, 2H, 2 фенольных OH-групп).

^{13}C -ЯМР (DMSO-d_6 , δ (м.д.), 300 МГц): 56,2179 (2 • OCH_3), 101,4313 (C-4), 111,8205 (2 • C-2'), 116,2327 (2 • C-5'), 121,6219 (2 • C-6'), 123,7059 (2 • C-1'), 126,8662 (C-2 + C-6), 141,2783 (C-1 + C-7), 148,5301 (2 • C-3'), 149,8889 (2 • C-4'), 183,7664 (C-3 + C-5).

ИК-спектр, ν (cm^{-1}): 3468,5 (ОН), 1627,8 (C=O), 1604,4, 1508,1 (C=C), 1282,4, 1027,3 (ν_{as} and ν_{s} C-O-C).

Дезметоксикуркумин [1-(4-гидрокси-3-метоксифенил)-7-(4-гидроксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)] – желто-оранжевый мелкокристаллический порошок состава $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$ с т. пл. 170–172 °С, λ_{max} (EtOH) 424 нм. Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): M^+ 338 (67%).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , ν (м.д.), 300 МГц): 3,82 (с, 3H, OCH_3), 6,05 (с, 1H, H-4), 6,70 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-2,6), 6,85 (д, 2H, $J=9$ Гц, H-6',6''), 7,19 (дд, $J=2$ и 9 Гц, 3H, H-5',3'',5''), 7,34

(д, 2H, $J=9$ Гц, H-2', 2''), 7,55 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-1,7), 9,70 (с, 2H, 2 фенольных OH-групп).

Бисдезметоксикуркумин [1,7-бис(4-гидроксифенил)-гепта-1,6-диен-3,5-дион-(1E,6E)] – желто-оранжевый мелкокристаллический порошок состава $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$ с т. пл. 221–223 °С, λ_{max} (EtOH) 420 нм. Масс-спектр (70 eV, 200 °С, m/z, %): M^+ 308 (100%).

^1H -ЯМР (DMSO-d_6 , ν (м.д.), 300 МГц): 6,10 (с, 1H, H-4), 6,69 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-2,6), 6,87 (д, 2H, H-6',6''), 7,17 (д, 4H, $J=9$ Гц, H-3',5',3'',5''), 7,35 (д, 2H, $J=9$ Гц, H-2', 2''), 7,56 (д, 2H, $J=16$ Гц, H-1,7), 9,68 (с, 2H, 2 фенольных OH-групп).

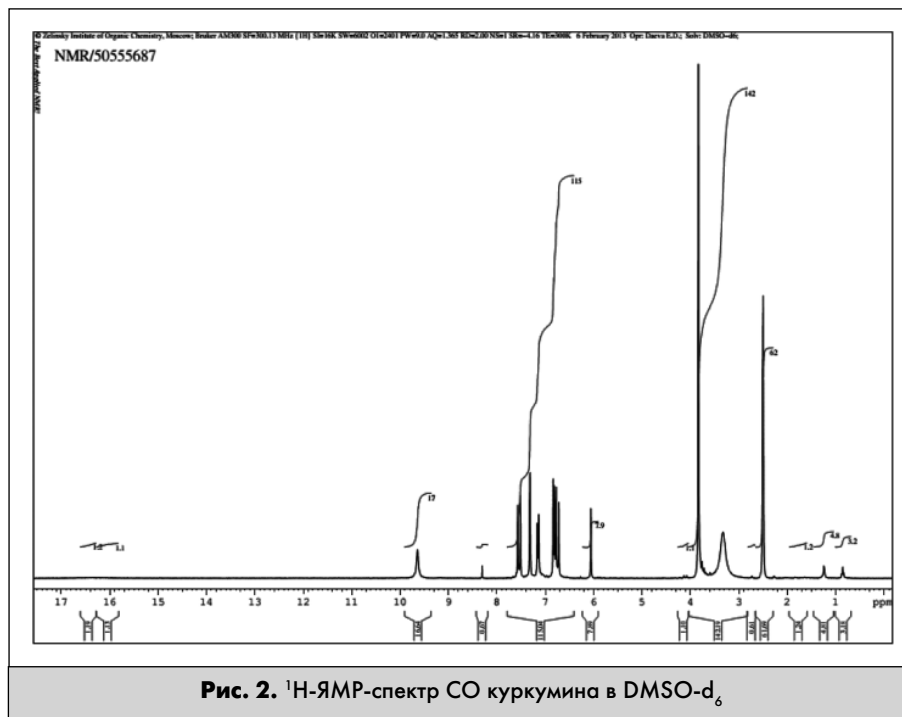


Рис. 2. ^1H -ЯМР-спектр СО куркумина в DMSO-d_6

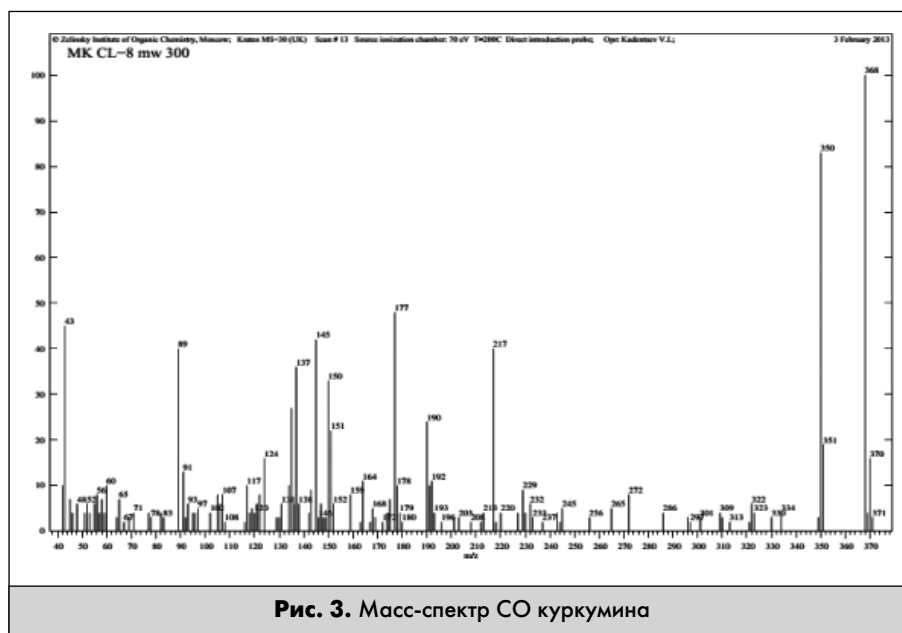


Рис. 3. Масс-спектр СО куркумина

¹³C-ЯМР и ИК-спектры дезметоксикуркумина и бисдезметоксикуркумина, снятые в аналогичных условиях, по характеру кривых не отличаются от таковых куркумина, за исключением соответственно меньшей интенсивности или полного отсутствия сигнала резонанса углерода группы – OCH₃ в ¹³C-ЯМР-спектре.

Качественный состав доминирующих куркуминоидов и их количественное соотношение, как по его общему содержанию (в культивируемых образцах – 2,4%), так и по соотношению доминирующих компонентов (в среднем: куркумин – 80%, дезметоксикуркумин – 15%, бисдезметоксикуркумин – 5%), показали идентичность образцов сырья растений природного ареала и культивируемых на территории Северного Кавказа. Рабочий стандартный образец куркумина, схема получения которого воспроизводится для всех исследованных образцов сырья, решает проблему стандартизации для сырья «Куркумы длинной корневища», рассматриваемого нами как новый официальный вид ЛРС, и позволяет проводить перспективные научно-исследовательские работы в международной кооперации по созданию оригинальных лекарственных средств на основе куркумы длинной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно результатам изучения куркуминового комплекса корневищ куркумы длинной, заготовленных от культивируемых образцов растения на территории Северного Кавказа, образцы отечественного сырья аналогичны образцам сравнения – корневищам куркумы длинной, заго-

товленным на территории Индии и Вьетнама. Это позволяет включать в качестве сырьевых источников для получения ЛРС «Куркумы длинной корневища» также растения традиционных ареалов и культивируемые в южных регионах России.

Разработан способ получения отечественного стандартного образца куркумина с помощью сочетания методов циркуляционной экстракции и адсорбционной колоночной хроматографии (выход 0,6–0,7% от массы воздушно-сухого сырья) и изучены параметры его качества.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Li S., Yuan W., Deng G., Wang P., Yang P., Bharat B. Aggarwal. Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops.*, 2011; 2: 28–54.
2. Gupta S.C., Patchva S., Bharat B. Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. *AAPS J.*, 2013; 15(1): 195–218.
3. Ibraheem R., Al-Wabli R.I. Synthesis of Curcumin Analogues Biconjugates as Potential Antitumor Agents in Isolated Human Cells. *B. Pharm. Sci.*, 2006 A.D.; 1426 A.H.: 150 p.
4. He X.G., Lin L.Z., Lian L.Z., Lindenmaier M. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometric analysis of curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa*). *J. Chromatogr. A.*, 1998; 127–32.
5. Syamkumar S., Sasikumar B. Molecular marker based genetic diversity analysis of Curcumaspecies from India. *Sci. Hort.*, 2007; 112: 235–41.
6. The Pharmacopoeia of People's Republic of China. Chemical Industry Press: Beijing, 2005.
7. Орловская Т.В. Фармакогностическое исследование некоторых культивируемых растений с целью расширения их использования в фармации: Дисс. докт. фарм. наук. Пятигорск, 2011. (Orlovskaya T.V. Pharmacognostic study of some cultivated plants in order to increase their use in pharmacy. Dissert. ... of doctor of pharm. Sciences. Pyatigorsk, 2011) (in Russian).

Поступила 6 октября 2016 г.

INVESTIGATION OF THE COMPOSITION OF CURCUMINOIDS IN TURMERIC (*CURCUMA LONGA* L.) RHIZOMES

Professor V.A. Kurkin¹, PhD; Professor E.V. Avdeeva¹, PhD; M.Yu. Borisov¹; T.K. Ryazanova¹, PhD; V.M. Ryzhov¹, PhD; Professor N. Guivarc², PhD; O.V. Sazonova¹, MD

¹Samara State Medical University; 89, Chapaevskaya St., Samara 443099, Russian Federation;

²François Rabelais University, Tours, France; Parc de Grandmont, 37200, Tours, France

SUMMARY

Introduction. Turmeric (*Curcuma longa* L.) is a perennial herbaceous plant of the Ginger family (Zingiberaceae), the rhizomes of which are well-known as a spice and traditional foodstuff in South-Eastern Asian countries and India, as well as a popular medicinal plant.

Objective: to investigate the chemical composition of curcuminoids in the rhizomes of turmeric cultivated in the North Caucasus.

Material and methods. The investigation objects were the rhizomes of turmeric cultivated in the North Caucasus and stored in 2007 and 2008 and commercial samples of raw materials from India and Vietnam. The investigation used thin-layer chromatography (Sorbfil PTSH-AF-A-UV plates), column chromatography (L 40/100 silica gel, eluent mixtures: hexane – chloroform in various proportions), spectrophotometry, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectroscopies, and mass-spectroscopy.

Results. Three dominant curcuminoids, such as curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin, were isolated from turmeric rhizomes; their structure was confirmed by UV, IR, NMR spectroscopies, mass spectrometry; and physicochemical constants were also established. An isolation scheme (the yield of the mass of air-dry raw materials was 0.6–0.7%) was proposed for curcumin regarded as a Russian standard sample.

Conclusion. The chemical composition of curcuminoids and the ratio of their dominant components were found to be stable for wild and cultivated samples of turmeric rhizomes.

Key words: turmeric, *Curcuma longa* L., rhizomes, chemical composition, curcuminoids, structural methods of analysis, physicochemical properties, standard samples.