УДК 615.322:451.16.2.015.4:616

ФАРМАКОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЫ ГИБИСКУСА ТРОЙЧАТОГО ФЛОРЫ СЕВЕРНОГО КАВКАЗА

© 2017 Л.Н. Савченко, В.А.Карпенко

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
Волгоградского государственного медицинского университета

Статья поступила в редакцию 23.05.2017

Изучен химический состав травы гибискуса тройчатого, установлено что водорастворимые полисахариды (ВРПС) составили 10,8%. Проведена стандартизация фракции (ВРПС) по восстанавливающим сахарам, содержание которых составило 33,27%±0,41. Определен состав и разработана технологическая схема производства шипучих гранул с ВРПС из травы гибискуса тройчатого. Определено содержание восстанавливающих моносахаридов в гранулах около 1,48%±0,06. Установлено, что полученные гранулы обладают отхаркивающим и противовоспалительным эффектом, причем несколько большим, чем таблетки Мукалтин.

Ключевые слова: *трава гибискуса тройчатого, водорастворимые полисахариды, шипучие гранулы*

Широкий ассортимент лекарственных препаратов отхаркивающего действия не исключает возможности изучения новых видов лекарственного растительного сырья с целью расширения номенклатуры препаратов подобного действия. Препараты из лекарственного растительного сырья отличаются низкой токсичностью, широтой спектра фармакологического действия, поэтому часто рекомендуются для консервативного лечения заболеваний в стадии ремиссии. До настоящего времени некоторые растения, содержащие ценные биологически активные вещества, применяются только в народной медицине. Несомненный интерес представляют растения, содержащие слизистые полисахариды, к которым следует отнести гибискус тройчатый (Hibiscus trionum), семейства Мальвовые (Malvacae). Слизистые полисахариды обладают отхаркивающим и противовоспалительным эффектом, оказывают иммуностимулирующее, гепатопротекторное и радиопротекторное действие. Листья и цветки гибискуса тройчатого применяют в народной медицине как антибиотическое средство в отношении золотистого стафилококка, но наиболее часто - в качестве диуретического, слабительного и потогонного средства. Настой из листьев гибискуса тройчатого используется как эффективное отхаркивающее средство.

Наше внимание привлекло отхаркивающее действие, поскольку современный фармацевтический рынок представлен в основном препаратами данной группы именно растительного происхождения. Предпочтение, отданное препаратам растительного происхождения, становится очевидным, если сравнить их с препаратами химического происхождения. Все препараты химического состава имеют ряд побочных действий (тошнота, аллергические реакции, бронхоспазм), а также противопоказаний (первый триместр беременности, индивидуальная повышенная чувствительность, бронхиальная астма). Что касается лекарственных препаратов растительного происхождения, то они практически не имеют побочных действий и противопоказаний, кроме индивидуальной чувствительности и открытой формы туберкулеза легких. Поэтому несомненный интерес представляет изучение нового вида лекарственного сырья, как источника слизистых полисахаридов.

Цель работы: изучение травы гибискуса тройчатого в качестве источника слизистых полисахаридов, обладающих отхаркивающим действием; выделение полисахаридного комплекса, разработка на его основе рациональной лекарственной формы – гранул и методов ее стандартизации; изучение отхаркивающего действия гранул с ВРПС гибискуса тройчатого.

Экспериментальная часть. Изучение химического состава травы гибискуса тройчатого показало наличие флавоноидов и полисахаридов, причем содержание флавоноидов оказалось незначительным и составило 0,08% в пересчете на рутин. Нами был изучен химический состав полисахаридного комплекса. Для получения достоверных данных проводили кислотный гидролиз с целью расщепления полисахаридов на моносахариды, которые идентифицировали методом бумажной хроматографии. Установлено, что содержание ВРПС составило 10,8%; пектиновые вещества (ПВ) – 5,4%; гемицеллюлоза (ГЦ) А – 11,1%; гемицеллюлоза (ГЦ) Б – 4,5% [1].

Выделение ВРПС из травы гибискуса тройчатого проводили методом дробной мацерации. 100,0 измельченного сырья (размер частиц не более 7 мм) заливали 3-х кратным количеством воды очищенной, нагретой до температуры 60-65^{0}С, экстракцию проводили в течение 3-х часов при периодическом перемешивании и поддержании указанной темпе-

Савченко Людмила Николаевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры технологии лекарств. E-mail:fleur-l2012@yandex.ru
Карпенко Валентина Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации. E-mail: f-akademiya@mail.ru

ратуры, по истечение указанного времени извлечение сливали. Повторную экстракцию проводили 2-х кратным количеством воды той же температуры в течение 12 часов, второе извлечение объединяли с первым. Полученное извлечение в объеме 300 мл фильтровали, упаривали под вакуумом при температуре 55-60^{0}С до объема 50 мл, охлаждали при комнатной температуре. Для выделения полисахаридного комплекса к упаренному извлечению добавляли 5-ти кратное (250 мл) количество 96% этилового спирта и оставляли для созревания осадка на 2 часа. Осадок полисахаридов отделяли от раствора центрифугированием, количественно переносили в выпарительную чашку и сушили в вакуум-сушильном шкафу при температуре 50-60^{0}С, так как ВРПС являются термолабильными веществами. Выход ВРПС составил от теоретически возможного - 92% [2].

Правильный выбор лекарственной формы является одним из важных показателей терапевтической эффективности препарата. Проведенные фармакологические исследования позволили установить отхаркивающее действие выделенного нами комплекса ВРПС. Для фитокомплексов подобного действия терапевтическая активность определяется скоростью их высвобождения из лекарственной формы, то есть действие препарата должно начинаться уже в полости рта. Обеспечить такой эффект можно получив шипучие гранулы или таблетки. Учитывая, что технология гранул значительно проще, мы остановились именно на этой лекарственной форме. При выборе вспомогательных веществ для гранул нами учитывался ряд факторов: их фармакологическая индифферентность, отсутствие адсорбции полисахаридов, хорошая растворимость в воде, приятный вкус. Готовые гранулы должны были без остатка растворяться в воде, что можно обеспечить созданием шипучих гранул, поскольку образующийся диоксид углерода, способствует быстрому растворению гранул [3].

Было подобрано несколько композиций ингредиентов для гранул, отвечающих перечисленным выше требованиям:

1. Глюкозы 81,0; натрия гидрокарбоната 3,0; кислоты лимонной 8,0; кислоты винной 8,0
2. Лактозы 34,0; глюкозы 34,0; натрия гидрокарбоната 16,0; кислоты лимонной 16,0
3. Глюкозы 68,0; натрия гидрокарбоната 16,0; кислоты лимонной 16,0
4. Сорбита 76,0; натрия гидрокарбоната 16,0; кислоты лимонной 8,0

Для указанных выше составов были изготовлены гранулы-плацебо. Технология изготовления гранул включала следующие операции: измельчение ингредиентов, просеивание (при необходимости), взвешивание, смешивание порошков с учетом их физико-химических свойств и количества, увлажнение массы гранулирующей жидкостью, гранулирование, сушка гранул и анализ.

Для увлажнения смеси порошков использовали воду очищенную и 50% этиловый спирт. Увлажнение проводили до получения пластичной массы, способной к формованию. Для увлажнения 10,0 гранулируемой массы использовали от 1,2 до 1,5 мл очищенной воды; при использовании этилового спирта (50%) его необходимо на 10,0 порошка брать 1,6-1,8 мл. Полученную увлажненную массу протирали сквозь сито № 20 ГОСТ 214-83, с размером отверстий 2 мм. Полученные влажные гранулы рассыпали на листе бумаги и сушили.

Для выбора оптимального состава гранул с ВРПС гибискуса тройчатого нами проводилось определение распадаемости гранул-плацебо четырех приведенных составов по методике ГФ ХШ изд.[1]. С этой целью навески гранул по 0,5 г помещали в стеклянные трубки корзинки лабораторного идентификатора. Размер отверстий сетки составлял 0,5 мм. В сосуд для жидкости помещали 200 мл очищенной воды температурой 37^{0}С±2 и включали прибор. Устанавливали время, в течение которого гранулы полностью распадались, о чем судили по отсутствию частиц на сетке диска. Полученные результаты приведены в табл. 1. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гранулы всех приведенных составов укладываются в допустимый предел распадаемости 15 минут. Наиболее быстро распались гранулы состава №4.

Таблица 1. Результаты определения распадаемости гранул-плацебо

Используемая гранулирующая жидкость	**Время распадаемости гранул, мин.**
гранулы состава №1	
вода очищенная	7
спирт (50%)	5
гранулы состава №2	
вода очищенная	11
спирт (50%)	9
гранулы состава №3	
вода очищенная	6
спирт (50%)	5
гранулы состава №4	
вода очищенная	4
спирт (50%)	3

Анализ гранул-плацебо различного состава показал, что гранулы состава №4, полученного с использованием в качестве увлажнителя 50% этилового спирта, обладают хорошей распадаемостью, просты в изготовлении, имеют приятный вкус. Именно этот состав был использован нами для введения ВРПС. Для получения гранул необходимо было подобрать дозу ВРПС, в пределах которой проявлялось бы отхаркивающее действие препарата. Поскольку гранулы являются дозированной лекарственной формой, нами был использован дозатор (специальная пластмассовая ложечка, позволяющая отбирать дозу примерно одинаковой массы). Состав гранул с ВРПС гибискуса тройчатого представлен в табл. 2.

Таблица 2. Состав гранул с ВРПС гибискуса тройчатого

Наименование ингредиентов	Количество ингредиентов	
	на 1 дозу	на 100 г
ВРПС гибискуса тройчатого	0,05	3,57
сорбит	1,0	75,95
натрия гидрокарбонат	0,25	16,0
кислота лимонная	0,10	8,0

Количество 50% этилового спирта на 100,0 массы порошков составило 16-18 мл, количество увлажнителя может колебаться в зависимости от влажности исходных продуктов. Гранулы получали, используя метод влажного гранулирования, который включает: подготовительные операции, технологический процесс, оценку качества готового продукта. Для изготовления гранул по приведенной прописи измельчали порошки, просеивали их через сито №32 и отвешивали необходимые количества. Подготовленные таким образом компоненты смешивали в смесителе в следующем порядке: сорбит, кислота лимонная, натрия гидрокарбонат и в последнюю очередь добавляли ВРПС, затем небольшими порциями добавляли гранулирующую жидкость (спирт этиловый 50%) и перемешивали до получения пластичной массы, способной к формированию. Полученную массу пропускали через гранулятор с размером отверстий сетки 2 мм. Влажные гранулы рассыпали тонким слоем и сушили при температуре 50^0С в вакуум сушильном шкафу в течение 3-4 часов. Высушенные гранулы отсеивали от пыли. Полученные гранулы представляли собой крупинки неправильной формы, светло-бежевого цвета, сладкого вкуса, своеобразного запаха. Размер гранул определяли методом ситового анализа, установлено, что размер гранул составил 0,2-0,3 мм; количество более мелких и более крупных частиц составило 1,25%, что не превышало нормы предусмотренной НД. Распадаемость гранул составила 4-5 минут; содержание влаги – 2,4%; сыпучесть была определена как «хорошая».

Стандартизацию гранул с ВРПС травы гибискуса тройчатого проводили спектрофотометрически по содержанию восстанавливающих моносахаридов после кислотного гидролиза ВРПС и взаимодействия с пикриновой кислотой. Точную навеску порошка гранул помещали в ампулу вместимостью 5 мл, прибавляли кислоты хлористоводородной разведенной, ампулу запаивали и нагревали один час на водяной бане. Затем содержимое ампулы количественно переносили в стакан и нейтрализовали раствором натрия гидроксида 30%, затем разведенной хлористоводородной кислотой и снова 10% раствором натрия гидроксида до нейтральной реакции среды. Раствор фильтровали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили объём раствора водой до метки (раствор А). В колбу, вместимостью 50 мл помещали 1 мл 1% раствора пикриновой кислоты, 3 мл раствора натрия гидроксида 20% и 1 мл раствора А. Колбу с содержимым помещали на кипящую водяную баню на 10 минут, затем охлаждали до комнатной температуры. Содержимое количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора до метки водой. Измерение оптической плотности полученного раствора проводили на спектрофотометре при длине волны 460 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали смесь, состоящую из 1мл 1% раствора пикриновой кислоты, 3 мл 20% раствора натрия гидроксида, 1 мл воды, нагревали на кипящей водяной бане 10 минут, объем раствора доводили до 25 мл, перемешивали. Параллельно проводили определение оптической плотности 1 мл раствора стандартного образца глюкозы, результаты представлены в табл. 3. Содержание суммы восстанавливающих моносахаридов в гранулах с ВРПС из гибискуса тройчатого составляет 1,48%±0,06.

Таблица 3. Содержание восстанавливающих моносахаридов в гранулах с ВРПС

Навеска гранул	Оптическая плотность	Найдено восстанавливающих моносахаридов,%	Метрологические характеристики
1,3995	0,552	1,39	$X_{ср}$= 1,48%
1,4067	0,562	1,46	$\Sigma(X_i - X_{ср})^2 \approx 0{,}019$
1,4005	0,555	1,56	$S_{CP} = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X_{cp})^2}{N(n-1)}} \approx 0{,}061$
1,3967	0,570	1,53	$\Delta X_{CP} = S \cdot \tau_X \approx 0{,}064$
1,4415	0,599	1,48	$\varepsilon = \frac{\Delta X_{CP} \cdot 100\%}{X_{CP}} \approx 4{,}37\%$
1,3976	0,565	1,44	$X_{ср} \pm \Delta X_{ср}$=1,48% ± 0,064

При определении отхаркивающего действии гранул с ВРПС из травы гибискуса тройчатого в качестве препарата сравнения использовали «Мукалтин». Изучаемые гранулы и препарат сравнения содержали действующие вещества (ВРПС) в одинаковых дозах 0,05 г. Методика изучения отхаркивающего действия заключалась в следующем - белых крыс массой 200-250 г забивали кровопусканием

из брюшной аорты. Трахею освобождали от прилегающих тканей, иссекая между гортанью и ее разветвлением, после чего фиксировали на стеклянной пластинке (9,0 см - 3,7 см - 0,3 см). Затем пластинку помещали в пластиковый бокс емкостью 350 мл с 250 мл раствора Тироде и размещали на 0,1-1 см ниже поверхности раствора. Во время эксперимента в боксе поддерживали постоянную температуру данного раствора. Активность ворсинок трахеи определяли временем передвижения на 5 мм маковых зерен, помещенных на противоположный гортанному участок слизистой трахеи. Базовую активность ворсинок определяли в 10 наблюдениях при использовании увеличительной приставки.

Изучаемые гранулы, а также препарат сравнения растворяли в 25 мл раствора Тироде и прибавляли к раствору, в котором находились трахеи. Затем регистрировали время, за которое было пройдено 5 мм участка трахеи. Было проведено 3 серии экспериментов (6 трахей животных в каждой серии). Результаты изучения отхаркивающего действия гранул с ВРПС гибискуса тройчатого и препарата сравнения Мукалтин представлены в табл. 4. Результаты считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Таким образом, полученные гранулы с ВРПС из гибискуса тройчатого обладали отхаркивающим действием в 2,3 раза превышающим действие Мукалтина.

Таблица 4. Влияние гранул с ВРПС из травы гибискуса тройчатого на активность ворсинок трахей крыс

№п/п	Время, мин.		
	физиологический раствор контроль)	раствор гранул с ВРПС (опыт)	раствор препарата сравнения («Мукалтин»)
1	20	5	12
2	18	4	13
3	17	5	10
4	20	5	13
5	20	6	11
6	17	6	12
Среднее значение	18,7±0,6	5,2±0,3*;#	11,8±0,5

Примечание: * - P< 0,001 (к физиологическому раствору) # - P< 0,001 (к раствору препарата «Мукалтин»)

Для выявления противовоспалительной активности проведено 2 серии опытов. Опыты проводили на белых беспородных крысах весом 200-250 г, которых вводили в состояние наркоза раствором пентобарбитал – натрия. На спине животного выстригали шерсть, ножницами делали разрез кожи и подкожной клетчатки длиной около 1 см. В образовавшуюся в подкожной клетчатке полость помещали стерильный ватный шарик массой 15 мг, после чего на рану накладывали два шва. Первой серии животных вводили с помощью зонда в желудок водный раствор гранул ВПРС гибискуса тройчатого в дозе 100 мг/кг (LD_{50} свыше 1000 мг/кг) с учётом максимально допустимых объемов. Второй серии животных вводили физиологический раствор в эквивалентных объемах. Эксперимент проводили в течение восьми дней, имплантированный шарик с образовавшейся вокруг его грануляционной тканью извлекали и взвешивали, затем высушивали до постоянной массы. О величине экссудативной фазы воспаления судили по разнице в массе (мг) шарика до и после высушивания, о величине пролиферативной фазы - по разнице в массе (мг) введенного шарика и его исходной массы (15 мг). Результаты эксперимента представлены в табл. 5. Полученные результаты свидетельствуют, что гранулы с ВРПС гибискуса тройчатого обладают противовоспалительной активностью, а также антипролиферативным действием, что определено по способности задерживать образование грануляционно-фиброзной ткани, формирующейся во второй фазе воспалительного процесса.

Таблица 5. Характеристика противовоспалительной активности гранул с ВРПС из гибискуса тройчатого

Используемые растворы	Число животных	Экссудация, мг		Пролиферация, мг	
		M±m	P	M±m	P
физиологический раствор	6	85,5±11,4	<0,05	18,2+0,7	<0,05
раствор гранул ВРПС	6	20,33±0,82	<0,05	6,0±0,89	<0,05

Выводы:

1. Изучен полисахаридный состав травы гибискуса тройчатого, представленный фракциями: ВРПС - 10,8%, пектиновые вещества - 5,4%, гемицеллюлоза А - 11,1%, гемицеллюлоза Б - 4,5%.

2. Проведена стандартизация фракции ВРПС по восстанавливающим сахарам, содержание которых составило 33,27±0,41%.

3. Определен состав и разработана технологическая схема производства шипучих гранул с ВРПС.

4. Определено содержание восстанавливающих моносахаридов в гранулах, которое составило 1,48±0,16%.

5. Установлено, что полученные гранулы обладают отхаркивающим и противовоспалительным действием, причем отхаркивающий эффект несколько выше, чем у таблеток Мукалтин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 13-е изд. – М., 2015. Т. 1-3. 1470 с., 1004 с., 1294 с.
2. *Губанова, Л.Б.* Получение водорастворимых полисахаридов шалфея мускатного травы и разработка мази на его основе / *Л.Б. Губанова* и др. //Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2013. Вып. 68. С. 155-156.
3. *Тигиева, З.Б.* Разработка технологии гранул, содержащих экстракт солодки и экстракт шалфея // Актуальные проблемы фармации: сб. материалов межрегиог.конф. – Пятигорск, 2010. С.60-62.

PHARMACOTECHNOLOGICAL RESEARCH THE HIBISCUS TRIPLE GRASS IN THE NORTH CAUCASUS FLORA

© 2017 L.N. Savchenko, V.A. Karpenko

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
Branch of Volgograd State Medical University

The chemical composition of hibiscus triple herb was studied, water-soluble polysaccharides (WSPS) were found at 10.8%. Standardization of WSPS fraction for reducing sugars, the content of which was 33.27±0.41%. was made. The composition is determined and the technological scheme of effervescent granules with WSPS production from the grass of hibiscus triple. The content of reducing monosaccharides in granules is about 1.48±0.16% was determined. It was established that the obtained granules has expectorant and anti-inflammatory effect, and somewhat larger than the Mucaltin tablets.

Key words: *triple hibiscus herb, water-soluble polysaccharides, effervescent granules*

Lyudmila Savchenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Drugs Technology Department. E-mail: fleur-l2012@yandex.ru
Valentina Karpenko, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Pharmacy Department. E-mail: f-akademiya@mail.ru