

Научна конференция с международно участие
СУБ Ст. Загора Том IV част I стр. 190-195, 03-04. VI 2004г.

СТАНДАРТИЗИРАНИ ЕКСТРАКТИ НА АНТОЦИАНИ ОТ FRUCTUS SAMBUCI NIGRI, PRUNUSI SPINOSAE И PHYTOLACCAE AMERICANAЕ ЗА АНТИХЕМОРАГИЧНИ ФИТОПРЕПАРАТИ И ЕКОЛОГИЧНИ ОЦВЕТТЕЛИ ЗА ХРАНИ И НАПИТКИ.

Никола Любомиров Пировски, ТрУ-Медицински факултет, Стара Загора, Три чучура-
север, бл. 80, вх. В, ет. 2, Любомир Тонев Пировски, ЕТ "Иван Велчев-74" Стара Загора

STANDARDIZED EXTRACTS OF ANTOCIANS FROM FRUCTUS SAMBUCI NIGRI, PRUNUSI SPINOSAE AND PHYTOLACCAE AMERICANAЕ FOR ANTIHAEMORRHAGIC PHYTOPREPARATES AND ECOLOGICAL COLOURING AGENTS FOR FOODS AND DRINKS.

Pirovski Nikola L., Thracian University- Faculty of medicine, Stara Zagora, Tri- chuchura sever,
bl. 80, en. V, ap. 38

Pirovski Lyubomir T., LTD "Ivan Velchev-74" Stara Zagora

Abstract

In the haemorrhagic angiopathia and diathesis lowering the permeability of the vascular wall and improving its mechanical strength is important. Bioflavonoids (vit. P), derivatives of the chroman (catehines and antocians) have this impact and are ecologically clear, vegetable, stable under pH 5, red and crimson in colour (E 163). The usage of fruits of wide spread bulgarian plants- Sambuci nigri, Prunusi spinosae and Phytolaccae americanae for the producing of vit. P extracts standardized toward antocians- concentration- 240.2 mg%, 238.8 mg% и 70.26 mg, extend the opportunitis for the production of phytoterapeutic drugs, foods and drinks according to GMP.

Key words: antocians, angiopatia, colouring agent, Sambucus, Phytolacca

Увод:

При хеморагичните ангиопатии (вазопатии, ангиоматози, ектазии, атеросклероза), хеморагичния васкулит (капиляротоксикоза), и хеморагичните диатези общ отличителен признак е повишеното кървене (хеморагия). То се обуславя от различни патогенетични механизми [15], [5]: нарушения в количеството и свойствата на тромбоцитите (томбоцитопении и тромбоцитопатии), нарушения в съсирваемоста на кръвта поради наследствени или придобит дефицит на прокоагуланти или повишено съдържание на антикоагуланти (хемофилия, диспротромбия, хипо- и афибриногенция) и нарушения в съдовата стена на кръвоносните съдове и обкръжаващата ги съединителна тъкан (вазопатии) вследствие на структурна непълноценост или увреждане от възпалителни, имунни, възрастови процеси, интоксикации, хиповитаминози, ендокринни заболявания, микротравми и др. За тяхното лечение, освен повлияване на основното заболяване което ги причинява, имат значение и препаратите, намаляващи проницаемостта на хематопаренхиматозната бариера на съдовата стена и увеличаване на механичната ѝ здравина.

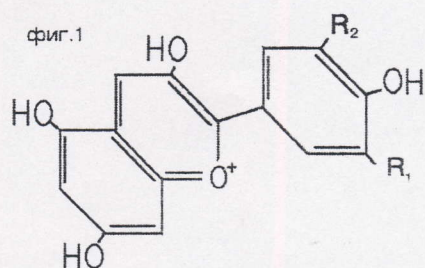
Такова действие, наречена Р- витаминно, (от permeability), притежават растителните фенолни биологично активни вещества (БАВ)- биофлаваноици (витамин Р), катехини, левкоантоциани, антоциани, флавоноли, халкони, аурони, фенолни киселини и др. В хематопаренхиматозната бариера заедно с колагена и другите белтъчни молекули, основна структурна функция играе и хиалуроновата киселина, която се разрушава (хидролизира) от ензима хиалуронидаза. Вит. Р подтиска действието на този ензим, а Вит. С влияе на процеса на образуване на колагена [2]. Тази разлика в механизмите на действие на Вит. Р и Вит. С обуславя техния функционален синергизъм при съвместното им влияние на състоянието на съдовата стена и обкръжаващата я съединителна тъкан.

Ориентирувчната потребност от Вит. Р е 50- 75 мг/24 часа. Многократното и превишаване няма отрицателни последици [2].

Единичната минимална доза от препарати от индивидуални биофлавоноидни вещества (рутин, кверцетин, хекспердин) е 0.02- 0.05 гр. [8].

Известни са около 150 флавоноидни съединения с Р- витаминно действие. Обединяващ белег е еднаквия въглероден скелет C₆-C₃-C₆. В растенията те са под формата на гликозиди, с изключение на катехините и левкоантоцианидините. В зависимост от степента на окисленост на пропановия фрагмент C₃ и от типа на хетероцикличния пръстен, те са производни на: бензо-гама-пирена (флафон, флавонол); бензо-гама-пирана (катехини и антоциани) и с отворена C₃ верига или с фуранов пръстен (халкон, аурон). При антоцианите (гликозиди с агликон- антоцианидин), кислородния атом в C₃ има свободна валенция и при въздействие с киселини се образуват флавилиеви соли. (таб.1), (фиг. 1)

табл.1	R1	R2
пеларгонидин	H	H
цианидин	OH	H
делфинидин	OH	OH
пеонидин	OCH ₃	H
малвидин	OCH ₃	OCH ₃
петунидин	OCH ₃	OH



На антоцианите се дължи червеното, синьото или виолетовото оцветяване на плодовете и цветовете. Те, както и флавоните и флавонолите, силно поглъщат ултравиолетовата и синьозелената светлина, което им придава защитна функция и възможност за използването им като природни екопротектори. Левкоантоцианите имат и непосредствена противотуморна активност и потенцират действието на алкилиращите лекарства и лъчевото въздействие върху туморите [1].

Успоредно с терапевтичната им активност, антоцианите са растителни, безвредни и за разлика от червения бетаин от цвекло (Е- 162), устойчиви при рН под 5, екологично чисти, червени и пурпурни оцветители (Е- 163 по Наредба № 8/2002 МЗ). В Италия, Франция и САЩ, те се използват за тази цел под името "Еноционин" и се получават от пресовки от червено грозде. В България от екстракт от червено вино и грозде, е създаден препарат "Еновитон" (ОН 0283869-90)- хранителна добавка срещу радиация (ВМА, 2003).

Цел на изследването:

Получаване и стандартизиране на биофлавоноидни фитопродукти с вит. Р- антихеморагично действие, комбинирано с червена оцветяваща способност, за екологични лекарства, храни и напитки от български неизползвани растителни дроги.

Материали и методи:

Използвани са изсушени напълно узрели плодове от Бъз (*Sambucus nigra*) и цели узрели свежи плодове от Трънка (*Prunus spinosa*) и от Винобой (*Phytolacca americana*). И трите растения са разпространени, а не достатъчно използвани в България [9], [4], особено плодовете им. Съдържанието и действието на целевите спиртно и водноразтворими БАВ в месестата част на плодовете им са дадени в Табл.2, [11], [9], [12], [6], [3], [7], [10], [13], [14]. За екстракция на сумата от биофлавоноиди (Вит. Р) от сухите цели плодове от Бъз е използван 80 процентен етанол подкислен с 0.08% к. НСL по метода на бисмацерацията с разбъркване при 40⁰С за 3 часа на тъмно в отношение 1:2.5 дрога към екстрагент, или общо 1:5. Полученият екстракт е филтруван и спирта- отдестилиран под вакуум при 40⁰С.

Полученият гъст екстракт е разреден с двойно количество гореща вода и след след охлаждане до 20⁰С е екстрахиран в течно/течностен екстрактор с хлороформ за отстраняване

на по- неполярните вещества и танините. От водната фаза, след изпаряване под вакуум при 40°C, е получена партида гъст тъмно червен, напълно водноразтворим екстракт на тотална биофлавоноидна смес (Вит. Р).

За екстракция на сумата от биофлавоноиди (Вит. Р) от свежи плодове на Трънка и Винобой, след тяхното смачкване при запазване целостта на костилките и семената, е използван същият екстрагент и технологичен метод, като спиртния екстракт е оставен да лагерува за 48 часа при 5°C, след което е филтруван отново и спирта е отдестилиран под вакуум при 40°C. Получени са партиди от гъсти тъмночервени, напълно водноразтворими тотални екстракти на Вит. Р от съответната дрога. Съгласно изискванията на Добрата производствена практика (GMP- Наредба 12/2001 МЗ) за качествено и количествено стандартизиране на екстрактите, за маркер са използвани антоцианите и по специално цианидин-3-глюкозида при екстрактите от плодове на Трънка и Винобой, и цианидин-3,5-диглюкозида при екстракта от плодовете на Бъз.

Изследването на метанолов подкислен с HCL разтвор от екстрактите е спектроколориметрично, като се измерва екстинкцията на спектрофотометър "Спекол" при дължина на вълната 530 nm и екстинкционен коефициент за цианидин-3-глюкозид при 523 nm равен на 4.47×10^4 [13]. Цветообразуващата способност на водни разтвори от екстрактите се определя спектрофотометрично при 525 nm в кювета с дебелина на слоя 1cm в сравнение при същото рН с воден разтвор на разрешения синтетичен ксантенов червен оцветител-еритрозин (Е-127), чийто оцветяваща способност и устойчивост към светлина, окислителни и редуктори са максимални, при допустима средна доза в продукта 1.25 мг/кг и максимална 150- 200 мг/кг продукт.

Резултати и обсъждане: (табл.3)

табл. 3			
показатели	Extractus spis. Fr. Sambucus	Extractus spis. Fr. Prunus	Extractus spis. Fr. Phytoacca
съдържание на антоциани	240.2 мг%	238.88 мг%	70.25 мг%
оцветяваща способност при рН под 5		600 пъти по ниска от тази на Е127(еритрозин	350 пъти по- ниска от тази на Е127
добив в проценти спрямо теглото на суровината	22%	17.38%	11.87%
Препоръчителна средна, денонощна, терапевтична и оцветяваща доза- гр./кг продукт	20- 30 гр.	20- 30 гр.	50- 70 гр.

При сравняване на получените резултати със съдържанието на тези БАВ известни в литературата (табл.2), се очертава резерв за подобряването им чрез оптимизиране на процеса на екстракцията от суровините, като се регулират факторите влияещи на масообменните процеси: избор на екстрагент, степен на оситненост на суровините, концентрационен градиент, температура, продължителност на екстракцията и хидродинамични условия. Това най- добре може да се осъществи в технологична промишлена инсталация по собствен Български патент за изобретение № 49500, която е универсална по отношение на суровини и технологични процеси. Получените гъсти напълно водноразтворими екстракти на биофлавоноиди (Вит.Р) са готови и подходящи фитопродукти за производство на фитотерапевтични лекарства, храни и напитки, съгласно изискванията на GMP, срещу хеморагичните ангиопатии и диатези. Едновременно с това, тези екстракти са и добър и разрешен, червен, стабилен при рН под 5, стандартизиран, екологичен оцветител- Е 163. в дози "колкото е необходимо" според Наредба 8/2002 МЗ за добавки в храни и напитки. При това добрата оцветителна способност на екстракта от плодове на Винобой се дължи и на

съдържащият се червен сесквитерпен- кариофилен. Това позволява в един и същ продукт да се обединят профилактично, лечебно и оцветяващо действие на екстрактите.

Изводи: От неизползвана в България за лечебни цели дрога, (плодове) на три разпространени растения- *Fructus sambucus*, *Fructus Prunus spinosae*, *Fructus Phytolacca americanae*, и са получени стандартизирани спрямо антоциани и оцветяваща способност, гъсти напълно водноразтворими екстракти на биофлавоноиди (Вит.Р). Маркирани са възможности за оптимизиране на промишлена технология за получаването на тези фитопродукти.

Създадена е възможност за разширяване продуктовата листа на фармацевтичната и хранителна промишлености чрез използване на тези фитопродукти в бъдещи фитотерапевтични лекарства и профилактични храни и напитки срещу хеморагичните диатези и ангиопатии, както и като стандартизиран екологичен червен природен оцветител- Е 163.

Табл.2

Съдържание и действие на БАВ в месестата част на плодовете на:		
<i>Fructus sambucus nigri</i> (Бъз)	<i>Fructus Prunus spinosae</i> (Трънка)	<i>Fructus Phytolacca americana</i> (Винобой)
витамин С- 10- 49 мг%	витамин С- 45- 60 мг%	.
каротин (провит. А) 16 мг%	каротин (провит. А) 2.44 мг%	.
витамин В комплекс: В1- 0.15 мг%, В2- 0.10 мг%	витамин В комплекс: В1- 0.25- 0.55 мг%, В2- 0.3- 0.4 мг%	витамин В комплекс: В1, В2 и др.
Дъбилни и багрилни вещества общо 2- 2.85%	Дъбилни и багрилни вещества общо 0.85- 1.7%	Кариофилен (червен бицикличен сесквитерпен, производно на бицикло-0,2,7-ундекана)
Дъбилни в- ва (танини) 0.29- 0.34%	Дъбилни в- ва (танини) 0.7- 1%	
карбонови киселини- 1.3 % (ябълчна, винена, лимонена, янтарна, валерианова)	Органични киселини- от 2.1 до 3.2 % в неузелите плодове и от 0.4 до 0.5 в узелите (ябълчна, лимонена, янтарна)	Никотинова киселина (Вит.РР)
аминокиселини (тирозин)	аминокиселини (серин 240мг%)	хистамини
етерично масло		тритерпенови сапонини
Гликозид (самбунигрин)- (в неузелите плодове) при хидролиза се получава синилна киселина и алкалоид- конин (отровни)		алкалоид- фитолакатокин 2.2%
Антоциани- до 2400 мг% (цианидин-3-самбубиозид, цианидин-3-глюкозид); Левкоантоциани- 130 мг%; Катехини- 90 мг%; флавоноли- 100 мг%; Самбуцин (сума от полифеноли- биофлавоноиди- Вит. Р)- 2400 мг%	Антоциани- до 400 мг% в зрелите плодове (делфинидин-3- моногликозид, цианидин-3-софорозид, цианидин-3-глюкозид); Левкоантоциани- 392 мг% до 48 мг% при узряване; Катехини- (галокатехин) от 400 мг% до 68 мг% при узряване; флавоноли- (рутин, кверцитин и др.)- от 420 мг% до 8 мг% при узряване; Сума от полифеноли- биофлавоноиди- Вит. Р)- 2500-4000 мг%	Антоциани 9.26 мг% (сумарно); флавонов глюкозид (омбуин, кверцетин-3-алфа-L-арабо-7-D-глюкозид; кварцетин-5,7-глюкоарабинозид; цианин)
Захари- 6- 7.5 %	Захари- 2.7- 8.7 %	захари
Пектинови в-ва- 0.80-0.95% (хетерополизахариди)	Пектинови в-ва- 0.40-0.75% (хетерополизахариди)	.
Целулоза- 7%	Целулоза- 2.3- 3.3 %	.
Минерални соли- 0.60- 0.80 мг% (К,Са,Fe, Р)	Минерални соли- 1.1- 1.7 мг% (К,Na,Mg,Ca,Fe, Р)	.
Вода в свежи плодове- 77.5- 80 %	вода (свежи плодове)- 70.8- 74.30%	вода в свежи плодове- 72- 75%

<p>Сумарно действие на плодовете: Местно и общо противовъзпалително и намаляващо сенсibiliзацията на организма; понижаващо проницаемостта на стените на кръвоносните съдове (Вит. Р) и увеличаване на здравината им (синергизъм с Вит.С); антихиалуронидазно действие; пикочогонно, потогонно, слабително, адстрингентно, общоукрепващо, антиоксидантно, антигрипно и имуностимулиращо действие. Неузрелите плодове са отровни, а узрелите не са.</p>	<p>Сумарно действие на плодовете: Адстрингентно средство при стомашни разстройства и отравяния. Стипчивия вкус се дължи на продукти от кондензацията на катехините и левкоантоцианите. Използва се и при болки в очите (глаукома, цилиарна невралгия, очен херпес зостер)</p>	<p>Сумарно действие на плодовете Във фармакопеята на САЩ, освен корените се характеризират и плодовете със слабително и еметично действие и приложение при кожни (бактериални, гъбични) болести, автоимунни заболявания, ревматични и ставни болести, ангина, катар на горните дихателни пътища, възпаление а жлезите на гърдата и на лимфната система, кистозна мастопатия. Дрогата е отровна. Препоръчвани дози- 0.06-0.3 гр. сушен корен; течен екстракт 1:1 в 45% алкохол- 0.1- 0.5 мл.; тинктура 1:10 в 45% алкохол- 0.2- 0.6 мл.; в хомеопатията- в потенция D4.</p>
---	---	--

Литература:

1. Асенов И., Николов С., Бенбасат Й., Фармакогнозия, "Медицина и физкултура", София, 1989
2. Барабой В., Растительные фенолы и здоровье человека, "Наука", Москва, 1984
3. Боарон М., Пейр-Фико А., Хомеопатията в ежедневието на магистър фармацевта., "Боарон", 1998
4. Бондев И., Хорологичен атлас на лечебните растения в България., "Академично издателство проф. М. Дринов", София, 1995
5. Виговская Я., Логинский В., Мазурок А., Гематологические синдромы в клинической практике., "Здоровья", Киев, 1981
6. Гаммерман А., Кадаев Г., Яценко- Хмелевский А., Лекарственные растения., "Высшая школа", Москва, 1990
7. Дорци М., Хомеопатия, ИК "Емас", София, 1999
8. Земцова Г., Бандюкова В., Флавоноиды как лекарственные препараты, сп. "Фармация", № 3, 1982 г., стр 68- 70
9. Йонкова Й., Крумов Р., Билките- здраве, красота и бизнес., "Календола, Пловдив, 1999
10. Клышев Л., Бандюкова В., Алюкина Л., Флавоноиды растений, "Наука", Алма-ата, 1978
11. Мичев, М., Найденов А., Чортанова С., Малинов Т., Горските плодове храна и лечебно средство., "Земиздат", София, 1983
12. Петрова В., Дикорастущие плоды и ягоды., "Лесная промышленность", Москва, 1987
13. Танчев С., Антоцианы в плодах и овощах, "Пищевая промышленность", Москва, 1980
14. Britton G., The biochemistry of natural pigments, "Cambridge University press", 1983
15. Denham M., Chanarin I., Blood disorders in the elderly "Churchill Livingstone", 1985
16. Prumayal potravin, 1985, № II, p. 378- 379, Промышленное производство антоциановых красителей, 1986