



УДК 615.451.16.012.015.

РАЗРАБОТКА СИРОПОВ КОМПЗИТНОГО СОСТАВА С ФИТОКОМПОНЕНТАМИ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

Э.Ф. СТЕПАНОВА¹
А.М. ТЕМИРБУЛАТОВА¹
Л.С. ВОРОНОВА²
И.Н. ЗИЛФИКАРОВ³

¹ *Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

² *ЗАО «МАГИ-Фарма», г. Москва*

³ *ЗАО «ВиФитех», г. Москва*

e-mail e.f.stepanova@mail.ru

Разработаны фитосиропы с экстрактом родиолы розовой и лимонника китайского. Полученные сиропы используются как биологически активные добавки к пище, являющиеся дополнительным источником биологически активных веществ, и применяются для профилактики респираторных и вирусных инфекций, особенно в осенне-зимний период, в случае нарушения обмена веществ и ослабления функционального состояния иммунной системы. Проведены микробиологические исследования.

Ключевые слова: родиола розовая, лимонник китайский, сироп, микробиологические исследования.

В последние годы во всем мире возросло внимание к использованию лекарственного растительного сырья, а также препаратов из него, которые являются малотоксичными, обеспечивают мягкое действие, не вызывая побочных эффектов. Что касается биологически активных добавок (БАД) к пище, то среди них преобладают средства гипотензивного и адаптогенного действия, роль которых в медицине значительна [1].

По требованию СанПиН 2.3.2.1153-02 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил и нормативов» не рекомендуется использовать в адаптогенных сиропах родиолу розовую и лимонник как монокомпоненты. Поэтому целью наших исследований было получение сиропов родиолы розовой и лимонника, в который включены дополнительные компоненты потенцирующие адаптогенный эффект. Для этой цели были выбраны чашелистики гибискуса Сабдариффа, используемые в пищевой промышленности как чай каркаде, к тому же обладающие корректирующими свойствами в отношении вкуса, цвета и запаха. Из литературных данных известно, что спиртовой экстракт гибискуса обладает гипополипидемическим, антигипоксантным, гипотензивным действием.

Композитные сиропы отличаются гипотензивным действием, который потенцируется за счет добавок гибискуса и шиповника, повышенной С-витаминной активностью (за счет шиповника), адаптогенным действием (в связи с использованием гибискуса), а также естественными корректирующими свойствами, т. к. гибискус и шиповник являются оптимальными комплексными корригентами.

В качестве «сладкой системы» были использованы простой сахарный сироп, растворы сорбита и фруктозы.

Для получения композитного сиропа были использованы экстракты родиолы розовой, лимонника жидкие и отвар гибискуса с шиповником [2].

В качестве основы использовали сахарный сироп и раствор фруктозы 70% концентрации [3]. Составы сиропов приведены в табл. 1.

Выбор системы подсластителей обосновывали исходя из результатов биологического теста на парамециях, которые, показательны для оценки адаптогенных свойств.

Биологическую активность разработанных композиций оценивали экспресс-тестом на культуре *Paramecium caudatum*. Применяли метод визуального наблюдения за клеточной культурой простейших, полученной методом клонирования и выращенной на среде Л.К. Лозина-Лозинского из коллекции Санкт-Петербургского государственного университета.



Таблица 1

**Составы сиропов адаптогенного действия
на основе отвара гибискуса и шиповника**

Наименование действующих вспомогательных веществ	Номер сиропа					
	1	2	3	4	5	6
Экстракт родиолы жидкий	1,2	1,2	1,2			
Экстракт лимонника жидкий				1,2	1,2	1,2
Сахар	64,0			64,0		
Фруктоза		70,0			70,0	
Сорбит			70,0			70,0
Отвар каркаде и шиповника	34,8	34,8	34,8	34,8	34,8	34,8

При естественном визуальном наблюдении за парамециями под микроскопом и воздействии на нее различных химических и физических факторов можно наблюдать изменение функций по двигательным реакциям, а также по изменению структуры. В хронических опытах при инкубации парамеций в испытуемых растворах веществ определяли выработку толерантности у клеток к клеточным ядам. В эксперименте соблюдали принцип парных аналогов. Использовали культуру инфузорий в стационарной и лаг-фазе (размножение и рост).

Исследования проводили в три этапа. На первом оценено возможное биоцидное действие препаратов. Культуру использовали в стационарной фазе роста. Сиропы вносили в среду с клетками в кратных разведениях питательной средой от 10^{-1} до 10^{-6} , при этом количество особей в 0,05 мл было постоянным во всех разведениях и не превышало 3-5. Через сутки инкубации определяли гибель клеток.

Биоцидное действие композиций проявлялось в концентрации 100 мг/мл, при дальнейшем разведении сиропов гибели клеток не наблюдали. Следовательно, все полученные композиции можно отнести к малотоксичным препаратам.

Целью второго этапа данного фрагмента фитопрепаратов была оценка влияния фитопрепаратов на интенсивность размножения инфузорий в культуральной среде, т. е. оценивали токсическое воздействие на клетки в хроническом опыте. После трех суток инкубации в термостате определяли плотность инокулята в контроле и опытах. В процессе наблюдения за культурой клеток фиксировали число особей в одной капле. Для подсчета числа инфузорий используется гемоцитометрический способ (камера Горяева). Контролем служили интактные клетки *Paramecium caudatum*, выдержанные в среде Л.К. Лозина-Лозинского, разведенной как в опыте. Количество особей в одной капле (0,05мл) – 5. Растворы инкубировали при температуре – 20-26°C, pH растворов 6,2-7,2.

Различие в концентрации живых парамеций в опытной и контрольных пробах является критерием токсичности или экологического благополучия среды для одноклеточного организма и степени влияния на аппарат размножения. Парамеции при благоприятных для размножения клеток условиях способны делиться со скоростью 2-3 генерации в сутки, а также размножаться и половым путем, при этом количество генерации возрастает в геометрической прогрессии. В контрольном опыте культура оставалась в стационарной фазе и количество особей не увеличивалось.

Следующий этап исследований – оценка влияния препарата на защитные силы одноклеточных. Для этого клетки парамеций после инкубации с препаратом в течение 3 суток подвергали неблагоприятному воздействию и оценивали их выживаемость. Неблагоприятное воздействие вызывали 3% раствором перекиси водорода, который при прямом воздействии оказывает биоцидное действие на клетку, вызывая окислительные процессы в клеточной мембране.

Остановочные концентрации токсикантов вызывают у *Paramecium caudatum* токсический эффект – обездвиживание – не сразу, а в течение некоторого времени. Вещества-протекторы повышают остановочную концентрацию токсикантов для *Paramecium caudatum*, но и в их присутствии токсический эффект развивается во временном интервале. Этот интервал может служить хронологической характеристикой действия протектора. Результаты определений приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Определение биологической активности сиропов
родиолы розовой и лимонника**

Объект исследования	Токсичность		Активность	
	Острая пороговая концентрация, г/мл	Темп размножения, число особей в сутки	Время остановки в 14% спирте этиловом, с	Время остановки в растворе водорода пероксида 1 %, с
Контроль	-	5	18 ± 5	9 ± 2
Экстракт родиолы розовой жидкий	5 · 10 ⁻⁴	50	550 ± 25	378 ± 7
Экстракт лимонника жидкий	5 · 10 ⁻⁴	50	535 ± 28	335 ± 8
Сироп родиолы розовой № 1	4 · 10 ⁻³	50	655 ± 18	385 ± 12
Сироп родиолы розовой № 2	2,5 · 10 ⁻³	50	605 ± 12	348 ± 14
Сироп родиолы розовой № 3	2,5 · 10 ⁻³	50	540 ± 16	310 ± 15
Сироп лимонника № 4	4 · 10 ⁻³	50	625 ± 18	335 ± 12
Сироп лимонника № 5	2,3 · 10 ⁻³	50	635 ± 12	328 ± 14
Сироп лимонника № 6	2,3 · 10 ⁻³	50	605 ± 16	305 ± 15
Сироп сахарный	3 · 10 ⁻²	20	122 ± 6	22 ± 3
Сироп фруктозы 70%	1,5 · 10 ⁻²	20	102 ± 8	24 ± 5
Сироп сорбита 70%	2 · 10 ⁻²	20	50 ± 4	15 ± 3

Анализ данных табл. 2 показывает, что при сочетании сахарного сиропа с экстрактом родиолы розовой и лимонником наблюдается отчетливый потенцирующий эффект

Высокие показатели активности, превышающие действие экстракта, оказались более выраженными при использовании сахарного сиропа простого. Фруктоза и сорбит уступают по биологической активности, поэтому мы выбрали сахарный сироп простой.

Приготовление отвара чашелистиков каркаде с плодами шиповника (1:1) проводили в котле с паровой рубашкой и мешалкой, в который загружали измельченные плоды шиповника и чашелистики гибискуса (каркаде), заливали водой очищенной, нагревали до кипения, кипятили 30 минут, извлечение охлаждали в течение 10 минут и отделяли от сырья, доводили до рассчитанного объема.

Полученное извлечение загружали в сироповарочный котел, добавляли сахар-рафинад и готовили сахарный сироп установленной концентрации. Полученный сироп фильтровали и при перемешивании добавляли в разные порции экстракт родиолы розовой жидкий и экстракт лимонника жидкий.

По микробиологической чистоте разработанные сиропы, на основании действующего СанПиН 2.3.4.1290 – 03, должны иметь достаточно низкую степень загрязненности, для этого были проведены микробиологические исследования сиропов.

Во избежание неправильной оценки результатов испытания определяли действие приготовленных сиропов в отношении стандартных тест-микроорганизмов. Для полученных сиропов: после перемешивания готовили разведения сиропа 1:10 в изотоническом растворе натрия хлорида, которое использовали для посевов по стандартной методике (двуслойный агаровый метод). В результате проведенных исследований оказалось, что все образцы сиропов родиолы розовой и лимонника антимикробным действием не обладают.

Количественное определение микроорганизмов в сиропах проводили двуслойным агаровым методом. Результаты исследований на микробиологическую чистоту образцов сиропов, свежеприготовленных и после инкубации в термостате при 30°C в течение 5 суток, отражены в табл. 3.



Таблица 3

**Микробиологическая чистота сиропов родиолы розовой
(без консервантов)**

Номера образцов	Число жизнеспособных микроорганизмов в 1 г сиропа				Наличие бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Бактерий		Грибов		Через 1 час	Спустя 5 суток
	Через 1 час после приготовления	Спустя 5 суток хранения при 30°C	Через 1 час	Спустя 5 суток		
1	50	350	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
2	80	580	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
3	70	320	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
4	40	520	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
5	65	680	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
6	75	620	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет

Проведенные исследования показали (табл. 3), что сиропы нестерильны и обсеменены бактериальной флорой. Свежеприготовленные сиропы укладываются в нормы микробиологической чистоты, однако при хранении в условиях повышенной температуры, благоприятной для развития микрофлоры бактериостатическим действием основа не обладает, поэтому было необходимо использование консервантов.

С целью выбора консервантов и их концентрации для защиты сиропов от микроорганизмов был приготовлен ряд составов с известными консервантами, разрешёнными к использованию в лекарственных препаратах и БАД к пище для внутреннего применения, – натрия бензоат и нипагин. Результаты исследований на микробиологическую чистоту консервированных сиропов приведены в табл. 4.

Таблица 4

**Результаты определения микробиологической чистоты сиропов
родиолы розовой с консервантами**

Номера образцов	Консервант	Число жизнеспособных микроорганизмов в 1 г сиропа				Наличие бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		Бактерий		Грибов		
		Хранение 30 суток	Хранение 6 месяцев	Хранение 30 суток	Хранение 6 месяцев	
1	Нипагин 0,1%	40	130	Менее 10	Менее 10	Нет
2	Нипагин 0,2%	30	70	Менее 10	Менее 10	Нет
3	Нипагин 0,2%	30	80	Менее 10	Менее 10	Нет
4	Натрия бензоат 0,2%	20	110	Менее 10	Менее 10	Нет
5	Натрия бензоат 0,2%	20	90	Менее 10	Менее 10	Нет
6	Натрия бензоат 0,5%	30	60	Менее 10	Менее 10	Нет

Данные результаты показывают, что добавление консервантов улучшает микробиологическую чистоту сиропов. Натрия бензоат лучше растворим в водной среде, имеет нейтральный вкус и запах, в связи с этим для консервации сиропа был выбран натрия бензоат в концентрации 0,5%.

Следующим этапом исследований было изучение органолептических свойств полученных сиропов с целью их оптимизации. Сиропы подвергались органолептической оценке по методике, разработанной И.Н. Андреевой. Результаты приведены в табл. 5.



Таблица 5

Оценка органолептических свойств композитных сиропов

Объекты исследований	Оценка органолептических свойств						Общая оценка восприятия
	Внешний вид	Оценка	Цвет	Оценка	Вкус и запах	Оценка	
Композитный сироп с родиолой	вязкая прозрачная жидкость	7	красно-малиновый	7	кисло-сладкий вкус с фруктовым запахом	12	26 отлично
Композитный сироп с лимонником	вязкая прозрачная жидкость	7	темно-красный	6	кисло-сладкий вкус	12	25 отлично

Анализ данных табл. 5 свидетельствует, что приготовленные композитные сиропы имеют высокую оценку по своим органолептическим показателям.

Следующим этапом наших исследований было проведение оценки качества сиропов. Общими показателями для всех сиропов были: внешний вид, плотность, рН. Для каждого сиропа отдельно разрабатывали качественные реакции, подтверждающие подлинность и содержание действующих веществ. Для идентификации БАВ в сиропах использованы качественные реакции соле-комплексообразования, окисления-восстановления, diazotирования, а также метод ТСХ, основанный на разделении соединений в тонком слое сорбента.

При проведении анализа ТСХ в пробоподготовку входило обезвоживание сиропа, для этого 5,0 г сиропа смешивали с высушенным безводным натрия сульфатом до сыпучего состояния, действующие вещества после этого извлекали соответствующими органическими растворителями.

Результаты качественного определения состава биологически активных веществ приведены в табл. 6.

Качественные реакции и ТСХ позволили подтвердить наличие основных БАВ, специфичных для изучаемых растительных компонентов.

Таблица 6

Результаты качественного анализа композитных сиропов с помощью химических реакций и ТСХ

Объекты исследований	Предлагаемая методика		Действующие вещества, подтвержденные качественными реакциями и ТСХ
	качественные реакции	ТСХ	
Сироп лимонника	Раствор в воде 1 : 5 Объем 2 мл Реактивы: 0,5 мл 10% раствор натрия гидроксида (переход окраски синее – сине-зеленое – желтое – цианидины); 1 мл раствора железа (III) хлорида (сине-зеленое окрашивание – полифенолы); 2 мл раствора свинца ацетата (синее окрашивание и белый осадок – органические кислоты)	Пробоподготовка та же. Пластина «Силуфол». Система растворителей: Петролейный эфир – этилацетат (1 : 1). Реактив: концентрированная кислота серная	Ярко-желтые пятна $R_f = 0,34$ схизандрин $R_f = 0,39$ схизандрол
Сироп родиолы розовой	Раствор в воде 1 : 5 Объем 2 мл 1-3 реакции те же. 4) К 2 мл полученного раствора прибавляют 5 капель 10% раствора свинца ацетата, выпавший осадок отфильтровывают. К 2 мл фильтрата добавляют 2 капли 1% спиртового раствора 1,2-нитрозоафтаола, нагревают, прибавляют 3 капли концентрированной кислоты серной (красно-оранжевое окрашивание – салидрозид)	Пробоподготовка: на смешивали с безводным натрия сульфатом, экстрагируют 10 мл спирта этилового 95%. Пластина «Силуфол» Система растворителей: Хлороформ – метанол – вода (26 : 14 : 3) В УФ свете	4 пятна фиолетового цвета $R_f = 0,4$ $R_f = 0,45$ $R_f = 0,6$ $R_f = 0,9$ Фенолпропаноиды



Для количественного определения основных групп БАВ были использованы титриметрические методы: алкалометрический для определения органических кислот. Кислоту аскорбиновую определяли титрованием натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолятом. Параллельно ставили контрольный опыт с использованием простого сахарного сиропа.

Результаты количественного определения основных действующих веществ в сиропах приведены в табл. 7.

Таблица 7

Результаты количественного определения биологически активных веществ в сиропах

Биологически активные вещества	Сироп родиолы	Сироп лимонника
Сумма антоцианов	0,049±0,9%	0,051±0,8%
Сумма флавоноидов	следы	-
Сумма органических кислот	1,75±0,5%	2,09±0,6%
Дубильные вещества	0,048±0,9%	-
Кислота аскорбиновая	0,103±0,6%	0,102±1,0%
Салидрозид	0,006±0,7%	-

На основании данных табл. 7 стандартизацию сиропов по основным действующим веществам проводили: для родиолы – по антоцианам, салидрозиду, аскорбиновой кислоте и органическим кислотам; для лимонника – по антоцианам и органическим кислотам.

Таблица 8

Результаты качественного анализа фитосиропов с помощью химических реакций и ТСХ

Показатели качества	Требования ТУ	Показатели	Требования ТУ	Показатели
	Композитный сироп с родиолой розовой		Композитный сироп с лимонником	
1. Внешний вид и описание	прозрачная вязкая жидкость темно-красного цвета, кисло-сладкого вкуса	соответствует	прозрачная вязкая жидкость, тёмно-красного цвета, кисло-сладкого вкуса	соответствует
2. Запах	специфический – шиповника	соответствует	специфический – шиповника	соответствует
3. Вкус	кисло-сладкий	соответствует	кисло-сладкий	соответствует
4. Плотность	1,300 – 1,330	1,329	1,280 – 1,320	
5. Показатель преломления	1,440 – 1,460	1,457	1,440 – 1,460	
6. Патока	не допускается		не допускается	
7. Определение подлинности: а) салидрозид (родиола) б) реакции на антоцианы	положительная	соответствует	положительная	соответствует
8. Количественное определение: аскорбиновая кислота, мг/100г сиропа органические кислоты, мг/100г сиропа антоцианы салидрозид	не менее 10 не менее 160 не менее 0,04% не менее 0,006%	13,58 187 0,046% 0,0063%	не менее 1,5% не менее 0,04%	1,75% 0,047%
9. Микробиологическая чистота:				
БГКП (коли-формы), не допускается в куб см, г	1,0	выдерж.	1,0	выдерж.
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускается в куб см, г	25	выдерж.	25	выдерж.
Дрожжи и плесени (сумма) объем куб. см, в котором не допускаются	40	выдерж.	40	выдерж.

Изучение стабильности полученных сиропов проводили при хранении в естественных условиях. По основным показателям сиропы выдерживают хранение в течение 1,5 лет, однако спустя 12 месяцев начинают разлагаться антоцианы, легко окисляются вещества экстракта каркаде. Поэтому срок хранения для изученных фитосиропов установлен в 1,0 год.

Таким образом, впервые проведены технологические исследования по разработке состава и технологии сиропов с жидким экстрактом родиолой розовой и лимонника китайского, разработаны нормы качества. Полученные сиропы являются дополнительным источником органических кислот, в т. ч. аскорбиновой, витаминов, флавоноидных соединений, которые можно применять для профилактики респираторных и вирусных инфекций, особенно в осенне-зимний период.

Литература

1. Жукович, Е.Н. К исследованию биологически активных лигнанов настойки и семян лимонника китайского /Е.Н.Жукович// Хим.-фарм. журн. – 2007. – Т.41, № 2 – С. 35-37.
2. Лекарственные растения тибетской медицины / Т.А. Асеева и др. – Новосибирск: Наука, 2005. – 370 с.
3. Степанова, Э.Ф. Разработка и фармакотехнологические исследования сиропа комбинированного состава с экстрактом родиолы розовой / Э.Ф.Степанова, А.М. Темирбулатова, А.В. Пантюхин // Материалы науч. программы XII спец. выставки аптека, 2005, 25-28 окт. – М., 2005. – С. 99-100.

DEVELOPMENT OF COMPOSITE SYRUP WITH PHYTOCHEMICAL ADAPTOGENIC EFFECT

E.F. STEPANOVA¹

A.M. TEMIRBULATOVA¹

L.S. VORONOVA²

I.N. ZILFIKAROV³

¹ *Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

² *Close corporation "Magi-pharma", Moscow*

³ *Close corporation "Vifitekch", Moscow*

e-mail: e.f.stepanova @ mail.ru

Phytosyrup with an extract of *Rhodiola rosea* and Chinese magnolia was designed. The resulting syrup is used as food supplements, which are an additional source of biologically active substances and are used to prevent respiratory and viral infections, especially in autumn and winter, in the case of metabolic and functional weakening of the immune system. Conducted microbiological research.

Key words: *Rhodiola rosea*, *Schizandra Chinese*, syrup, microbiological investigations.