

Prosudba kakvoće sluznih droga

Milin, Vesna; Kuštrak, Danica

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2003, 59, 141 - 149**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:935066>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-05**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Prosudba kakvoće sluznih droga

VESNA MILIN^{*} i DANICA KUŠTRAK

Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

UVOD

Biljne vrste porodice *Malvaceae* i *Plantaginaceae* daju veći broj oficinalnih i neoficinalnih droga. Monografije oficinalnih droga nalaze se u svim novijim farmakopejama, uključujući i europsku farmakopeju (Ph.Eur.). Neoficinalne droge ulaze u sastav nekih ljekovitih oblika, a vrlo su cijenjene u pučkoj medicini (1).

Farmakološki te su droge svrstane u skupinu mucilaginoza, droga sa sluznim polisaharidima. Mucilaginoza pokazuju zaštitni učinak na sluznicu. Oni djeluju osim toga protuupalno. Bubrenje u prisutnosti vode dovodi do ugušćenja crijevnog sadržaja. U literaturi je opisano i imunostimulirajuće djelovanje sluznih polisaharida (2). Postoje brojni znanstveni radovi o kvalitativnom i kvantitativnom sadržaju tih tvari u biljci tijekom vegetativnog razvoja (3,4). Rezultati tih istraživanja su pokazali, da je sadržaj polisaharida veći u jesenjim mjesecima, nego u proljetnim (5).

Prosudivanje kakvoće sluznih droga prema farmakopejskim propisima provodi se metodama koje mjere fizikalno-kemijska svojstva polisaharida, a to su viskozitet i svojstvo bubrenja. Postoji i histokemijsko dokazivanje sluznih stanica u mikroskopskom preparatu.

Svrha našeg rada bila je odrediti količinu sluzi u uzorcima biljnog materijala s raznih lokaliteta, metodama koje propisuju farmakopeje za sluzne droge. Rezultati istraživanja trebali su pokazati koliko količina droge upotrebene za određivanje, kao i vrijeme bubrenja (4 h ili 6 h), odnosno prethodno vlaženje biljnog materijala etanolom ili acetonom utječu na broj bubrenja.

* Dio teksta je iz Diplomskog rada Vesne Milin mr.pharm.

EKSPERIMENTALNI DIO

A. Biljni materijal

Prosudba kakvoće provedena je na uzorcima:

a) Uzorci skupljeni na području Zadra ljeti od lipnja do kolovoza:

1. Malvae silvestris flos et folium – crni sljez
2. Malvae arboreae flos (Alceae roseae flos) – trandovilje
3. Plantaginis folium – trputac

b) Uzorci skupljeni na području Imotskog (13. lipnja):

1. Malvae silvestris flos et folium

c) Uzorci skupljeni na području Miholjanec-Virje (obronci Bilogore – 22. kolovoza):

1. Malvae alceae flos, folium et fructus – oštrolisti sljez

d) Uzorci iz prometa (farmaceutska industrija):

1. Plantaginis ovatae semen – indijski trputac
2. Plantaginis ovatae testa – episperm sjemena

B. Analitičke metode

1. Određivanje broja bubrenja

Broj bubrenja se u farmakopejama definira kao broj ml koje zauzima 1 g droge sa sluzima nakon bubrenja u vodi uz određene uvjete. Ako za određivanje nije uzet 1 g droge, pročitani volumen mora se preračunati na 1 g.

Pojedine farmakopeje donose propise za određivanje broja bubrenja uz neke razlike, kojima je svrha što točnije očitavanje izbubrene sluzi. Ph.Jug. II. za prosuđivanje kakvoće sluznih droga donosi samo monografiju Određivanje broja bubrenja, dok Ph.Jug. III. (8-090) vrednuje droge sa sluzima određivanjem relativne viskoznosti. Razlika u propisu u Ph.Jug. II. i Ph.Jug. IV. (8-055) je u tome, što četvrta farmakopeja biljni materijal vlaži sa 1 ml koncentriranog etanola, a zatim prelije sa 25 ml vode u propisanom cilindru. Mućka se 1 sat, a zatim ostavi stajati 4 sata, nakon čega se pročita volumen droge zajedno sa sluzi.

Austrijska farmakopeja (ÖAB 9) propisuje za monografije Flos Malvae i Folium Malvae količinu od 1,0 g usitnjenog cvijeta ili lista, kojeg vlaži sa 1 ml acetona (R). Tijekom prvog sata stajanja biljni se materijal povremeno protresa, ali ne previše snažno (za razliku od drugih farmakopeja). Nakon 4 sata stajanja očita se volumen droge s otopljenom sluzi.

Njemačka farmakopeja 9 i 10 (1991) određuju broj bubrenja sa 1,0 g čitave droge, ili prema propisu u monografiji usitnjene, koja se prije dodatka 25 ml vode navlaži sa 1,0 ml 96%-tnog etanola. Tijekom prvog sata droga se svakih 10 min **snažno** mućka, a zatim ostavi stajati 3 sata.

Ph.Helv.VI. propisanu količinu droge prelijeva sa 25 ml vode, a zatim u vremenu 1 sata **snažno** mućka svakih 10 min. Nakon stajanja od 6 sati od-

redi se broj bubrenja. Ako je određivanje izvedeno s količinom manjom od 1,0 g droge, očitani se volumen preračuna na 1,0 g.

Ph.Eur. 2 također definira broj bubrenja kao volumen u mililitrima kojeg zauzima 1 g droge sa sluzi, nakon bubrenja u vodi kroz 4 sata.

1,0 g droge, cijele ili usitnjene, prema propisu Ph.Eur.2 u monografiji, navlaži se sa 1,0 ml alkohola (R) i doda 25 ml vode. Mućka se svakih 10 min kroz 1 sat, a zatim ostavi stajati 3 sata.

Kao broj bubrenja uzima se srednja vrijednost od najmanje 3 istodobna mjerenja.

2. Određivanje viskoznosti

Viskoznost se definira kao trenje izazvano gibanjem molekula unutar tekućine. Vrijednost za viskoznost u farmakopejama odnosi se na relativnu viskoznost. Relativna viskoznost označuje odnos brzine protjecanja tekućine (ekstrakta droge) i brzine protjecanja jednakog volumena vode na propisanoj temperaturi.

3. Histokemijske reakcije

Te reakcije u propisu farmakopeja služe za dokazivanje prisutnosti i utvrđivanja lokalizacije djelatnih ili karakterističnih sastojaka droga.

Dokazivanje sluznih stanica u mikroskopskom preparatu osniva se na fizikalnim i kemijskim svojstvima. Sluzni polisaharidi mogu se bojiti bazičnim bojama, kao što su metilensko plavilo ili rutenium crvenilo. Kad se preparat stavi u metilensko plavilo (r.o.) te nakon 15 min oprezno opere 50%-tnim etanolom da se osnovno tkivo obezboji, sluz ostaje obojena izrazito plavo. Dokazivanje sluzi pomoću tuša osniva se na pojavi da tuš ne ulazi u stanice sa sluzi, već se u mikroskopskoj slici vide svijetlije zone izdubrene sluzi na tamnoj podlozi. Dokazivanje stanica sa sluzi može se izvesti i pomoću otopine tionina. 1 kap otopine tionina doda se suhom preparatu, ostavi stajati 15 min, a zatim preparat opere etanolom. Sluzi se oboje ljubičastocrveno. Pri tome celulozne i lignificirane stanične stijenke oboje se plavo ili plavoljubičasto.

Ph.Eur. 4. 2. u monografiji *Althaeae folium* i ulomku Identifikacija, donosi tekst koji se odnosi na mikroskopsko dokazivanje sluzi pomoću otopine rutenium crvenila. U fragmentima parenhima stanice sa sluzi oboje se narančastocrveno.

REZULTATI I RASPRAVA

Pojedine farmakopeje u monografijama sluznih droga različito definiraju vrstu ili dio biljke koji čini drogu. Tako ÖAB 9 propisuje da drogu *Malvae flos* tvore osušeni cvjetovi vrste *Malva silvestris* L. subsp. *mauritanica* (L.) Ascherson et Graebner, a drogu *Malvae folium* osušeni listovi još i vrste *Malva neglecta* Wallroth.

Neki komercijalni standardi prisutnost cvjetova srodnih vrsta (*Malva neglecta* Wall. i *Althaea rosea* (L.) Cav) u izvoznom uzorku cvijeta crnog sljeza – *Malvae flos*/Mallow flower smatraju falsifikatima. Kod uzorka *Althaeae*

folium/Marshmallow leaf upućuju na falsifikat ako se nađu listovi koji pripadaju vrsti *Lavatera thuringica* (*Malvaceae*) (Slika 1).

Propis u austrijskoj farmakopeji za određivanje broja bubrenja kod droga-cvjetova odnosi se na uzorke cvjetova bez čaške (težina čaške prema laticama je 1:2). U tom se slučaju postižu gotovo dvostruke vrijednosti. Franz (5) je određivao količinu sluzi u pojedinim organima bijelog i crnog sljeza i našao da cvjetovi crnog sljeza (čitavi) sadrže 6,1% sluzi, a bez čaške (samo laticice) 8,9%.

Propis u Ph.Jug. II, kao i u Ph.Helv. VI, za određivanje broja bubrenja zahtijeva da se droga prelije destiliranom vodom, bez prethodnog kvašenja acetonom ili koncentriranim etanolom. Pri tom se biljni materijal najčešće podijeli u dva dijela, što otežava očitavanje volumena droge i sluzi. Do odvajanja dolazi uvijek, i kad se voda dodaje postupno, u malim obrocima i uz stalno mućkanje. U postupku određivanja broja bubrenja prema propisu ÖAB 9, biljni se materijal navlaži acetonom prije dodavanja vode. Bez tog vlaženja ne bi se moglo odrediti broj bubrenja kod droga-cvjetova, jer dijelovi laticice plivaju na površini vode. Novije farmakopeje propisuju vlaženje biljnog materijala koncentriranim etanolom, kako ne bi došlo do razdvajanja u dva ili više slojeva.

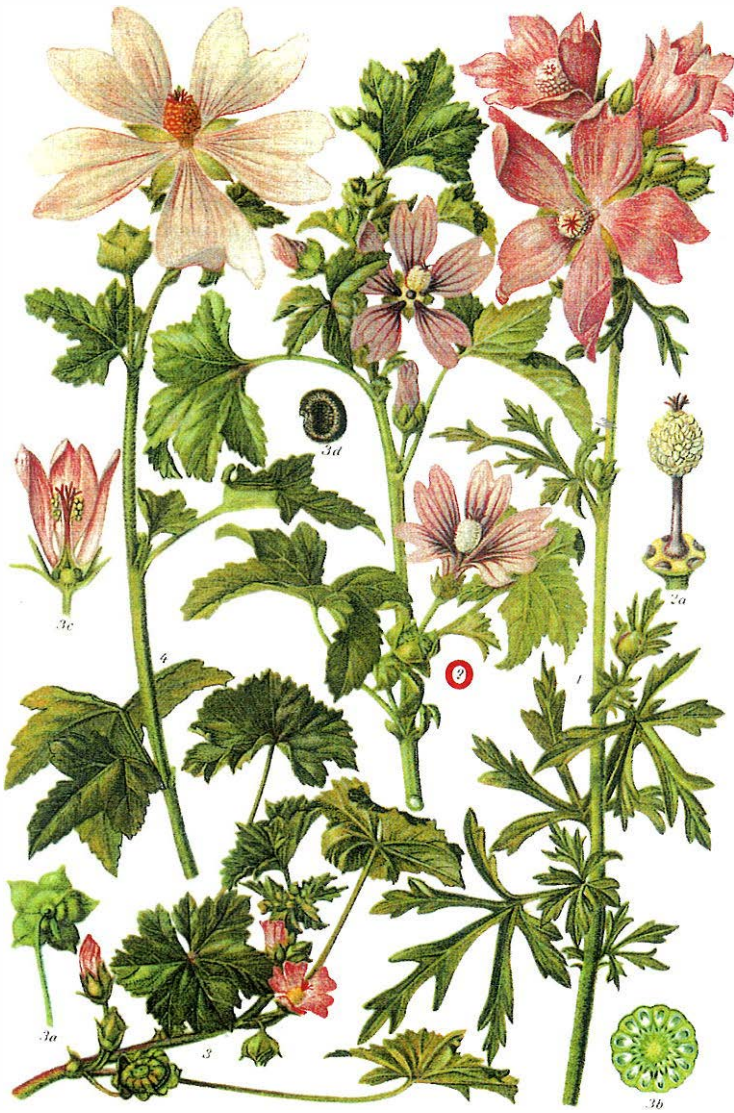
Naša su određivanja pokazala da su uzorci cvjetova crnog sljeza imali najveći broj bubrenja kad su određivani prema propisu u ÖAB 9, zatim prema propisu u Ph.Jug. IV. i DAB 9, a najmanji prema propisu u Ph.Jug. II. i Ph.Helv. VI. (bez vlaženja biljnog materijala). Prilikom određivanja broja bubrenja u uzorcima *Malvae folium* rezultati su bili obrnuti. Može se pretpostaviti, da je došlo do taloženja sluzi dodatkom etanola (Tablica 1).

Kod uzorka *Malvae arboreae flos* količina upotrebljavana za određivanje bila je manja od farmakopejskog propisa; iznosila je 0,2 g. Količine od 1,0 g, pa čak i 0,5 g, bile su prevelike pa je čitav cilindar bio ispunjen cvjetnom ma-

Tablica 1.

Određivanje broja bubrenja u uzorcima crnog sljeza – *Malva silvestris* (očitanje vrijednosti)

Droga uzorak	Ph. Jug. II.		Ph.Jug. IV DAB 9		ÖAB 9		Ph. Helv. VI.	
Malvae flos								
a) uzorak	6.8	6.6	7.8	6.8	10.3	9.8	6.6	6.5
Zadar 0.2g	6.6	6.4	8.0	6.7	11.4	10.0	6.8	6.6
	6.6	6.5	7.4	6.5	11.0	10.4	6.4	6.5
b) uzorak	8.0	7.8	9.3	6.8	13.1	13.0	7.0	6.8
Imotski 0.2g	8.6	8.0	8.8	7.8	13.5	13.2	7.4	7.2
	8.8	8.4	9.8	7.6	13.8	12.8	7.4	7.8
Malvae folium								
a) uzorak	16.2	13.8	14.8	14.0	15.8	15.2	15.4	15.0
Zadar 1.0 g	15.8	13.6	15.6	13.8	16.0	15.6	14.8	15.2
	15.7	13.2	15.6	14.2	15.6	15.8	15.6	14.8
b) uzorak:	7.6	7.4	5.8	5.6	6.0	5.8	7.6	7.2
Imotski 0.5 g	7.4	7.5	6.4	6.2	6.6	6.2	7.8	7.6
	7.3	7.6	6.8	6.0	6.2	6.0	7.8	7.4



○ Malva silvestris (Hegi)

Slika 1. Vrste porodice Malvaceae; 1 – *Malva moschata*, 2 – *Malva silvestris*, 3 – *Malva neglecta*, 4 – *Lavatera thuringica*; (iz Hegia)

Tablica 2.

Određivanje broja bubrenja u uzorcima:

1. trandovilje – *Malva arborea*, 2. trputac – *Plantago lanceolata* (očitanje vrijednosti)

Droga uzorak	Ph. Jug. li.		Ph.Jug. IV DAB 9		ÖAB 9		Ph. Helv. VI.	
1. Malvae arboreae flos								
a) uzorak	14.8	15.0	14.6	14.8	14.6	14.4	14.9	14.8
Zadar 0.2 g	15.0	15.2	14.8	15.0	15.0	14.8	15.2	15.4
	15.0	14.8	15.0	15.2	14.8	15.0	15.0	15.2
Plantaginis folium								
a) uzorak:	11.2	10.8	11.4	12.2	11.6	10.8	11.8	11.5
Zadar 1.0 g	9.8	10.0	12.1	12.0	12.8	11.0	10.8	10.5
	12.7	12.4	9.8	9.8	11.2	10.4	12.0	10.0

Tablica 3.Određivanje broja bubrenja u uzorcima oštrolisnog
sljeza – *Malva alcea* (očitanje vrijednosti)

Uzorak droga	Ph. Jug. li.		Ph.Jug. IV DAB 9		ÖAB 9		Ph. Helv. VI.	
Uzorak: Miholjanec (Virje)								
1. Malvae	6.8	6.9	7.0	7.1	7.0	7.2	6.8	6.6
alceae flos 0.2 g	7.0	6.8	7.2	6.9	7.8	7.0	7.0	6.8
	6.6	6.8	6.9	7.0	7.4	7.0	7.2	6.8
2. folium 0.5 g	5.0	4.6	5.0	5.1	5.2	5.1	5.0	4.3
	5.8	5.1	5.4	4.6	5.0	4.6	5.8	5.2
	4.8	4.4	4.9	4.4	4.9	4.8	5.2	4.7
3. fructus 0.2 g	3.2	3.0	3.0	2.9	3.2	3.1	3.2	3.0
	3.0	3.2	3.2	3.0	3.0	3.1	2.9	2.9
	3.1	3.2	3.1	3.4	2.9	3.4	3.1	3.1

som. Ni nakon višesatnog stajanja nije došlo do odvajanja slojeva pa se nije mogla očitati vrijednost za broj bubrenja.

Literaturni podaci za *Plantaginis lanceolatae folium/herba* navode sadržaj polisaharida od 2–5% (7), ili ca. 6,5% (8). Prema tome bi broj bubrenja imao nisku vrijednost. To nije u skladu s našim rezultatima (Tablica 2).

Malva alcea nije oficinalna droga i u farmakognoziji se ne spominje često. Uzorak *Malvae alceae flos* imao je tek nešto manji broj bubrenja od uzorka *Malvae silvestris* (Tablica 3).

Razlika je zapažena prilikom određivanja prema propisu ÖAB 9. Razlog je možda u kemijskoj strukturi polisaharida.

Zahtjev Ph.Eur. 4.2. je da *Plantaginis ovatae semen* ne smije imati broj bubrenja manji od 9, a *Plantaginis ovatae seminis tegumentum* manji od 40. Uzorci indijskog trputca pokazali su da se radi o drogama visoke kakvoće (Tablica 4).

Rezultati naših određivanja pokazali su da količina droge ima značajnu ulogu. Bubrenje biljnog materijala u trajanju od 4 h ili 6 h ne pokazuje značajnije povišenje vrijednosti broja bubrenja (Tablica 4).

Tablica 4.

Određivanje broja bubrenja u uzorcima: 1. Plantaginis ovatae semen
2. Plantaginis ovatae testa (očitanje vrijednosti)

Droga uzorak	Ph. Jug. II.	Ph. Jug. IV. DAB 9	Ph. Eur. 2	Ph. Helv. VI.
1. Plantaginis ovatae semen				
uzorak a)	12.8 13.2	14.0 13.0	13.2 13.4	12.6 13.2
1.0 g (4 h)	13.4 13.0	13.5 14.2	13.0 13.2	13.0 13.1
uzorak b)	16.0 15.8	13.6 14.0	13.0 13.2	12.8 12.8
1.0 g (4 h)	15.6 15.2	14.2 13.8	12.8 13.0	13.0 14.0
1.0 g (6 h)	16.0 15.6	14.0 14.2	13.4 13.8	14.2 13.8
	16.1 15.4	13.8 14.0	14.0 13.8	13.6 14.0
2. Plantaginis ovatae testa				
uzorak a)	18.0 18.5	18.6 18.2	20.0 19.6	20.0 20.2
0.3g (4 h)	18.2 19.0	18.0 18.4	19.8 19.4	19.8 19.4
0.2g (4 h)	- -	13.2 13.0	13.6 13.8	- -
	- -	12.9 12.6	13.0 13.2	- -
uzorak b)	20.0 21.3	18.9 19.2	21.0 20.0	19.6 19.8
0.3 g (4 h)	20.2 19.8	20.0 20.0	20.6 21.2	20.0 20.2
0.3 g (6 h)	20.5 20.4	19.0 20.0	20.8 20.6	21.4 20.6
	21.6 21.0	19.8 18.8	20.8 21.0	20.8 21.0

Tablica 5.

Određivanje relativne viskoznosti (Ostwaldovim viskozimetrom)

Droga Uzorak	t'	t	relativna viskoznost $\frac{t}{t'}$	ncSt
	brzina protjecanja vode (20°C)	brzina protjecanja probe		
Malvae flos uzorak:				
a) 2g/100mL vode, 30'	41.50"	71.80"	$\frac{71.80}{41.50}$	1.73
b) isto	39.10"	91.90"	$\frac{91.90}{39.10}$	2.61
c) isto	40.06"	79.60"	$\frac{79.60}{40.06}$	1.99
Malvae folium uzorak:				
a) 2g/100mL vode, 30'	40.06"	86.02"	$\frac{86.02}{40.06}$	2.15
b) isto	41.50"	87.20"	$\frac{87.20}{41.50}$	2.10
Plantaginis ovatae semen uzorak:				
a) 2g/100mL vode, 30'	42.00"	48.60"	$\frac{48.60}{42.00}$	1.16
b) isto	50.90"	42.00"	$\frac{42.00}{50.90}$	1.21
c) isto	40.20"	45.90"	$\frac{45.90}{40.20}$	1.14
d) isto	41.50"	45.65"	$\frac{45.65}{41.50}$	1.10

U svezi s određivanjem relativne viskoznosti iz prakse su došle primjedbe da je maceracija droge od 30 minuta prekratko vrijeme za potpunu ekstrakciju sluzi. Povećano vrijeme maceriranja rezultira vrlo viskoznim otopinama, a onda se javlja problem cijedenja (vata se slijepi; otežano koliranje). Procijediti jedanput ili dvaput sigurno utječe na brzinu protjecanja probe

kroz kapilaru viskozimetra. Vrijeme protjecanja jako ovisi o temperaturi tekućine, odnosno kupelji.

ZAKLJUČAK

Najveća vrijednost broja bubrenja za skupljene uzorke nađena je za cvijet trandovilja – *Malvae arboreae* flos.

Cvjetovi vrsta porodice *Malvaceae* sadrže uvijek više sluzi od listova (i farmakopejski zahtjevi su u skladu s tim; ÖAB 9).

Za prosudbu sluznih droga predlažemo za Hrvatsku farmakopeju određivanje broja bubrenja prema propisu kojeg donosi Europska farmakopeja.

Evaluation of the drugs with mucilage

by M. Milin and D. Kuštrak

S u m m a r y

Flowers and leaves of *Malva silvestris*, flowers of *Malva arborea* (*Althaea rosea*, *Alcea rosea*), flowers, leaves and fruits of *Malva alcea* (*Malvaceae*), and leaves of *Plantago lanceolata* (*Plantaginaceae*) were compared by determination of the swelling index and viscosity of their mucilages.

The species of the family *Malvaceae* are known to contain large quantities of polysaccharides. The acidic polysaccharides were isolated from the mucilages of leaves and flowers, and were found to be composed mainly of glucuronic acid, galacturonic acid, rhamnose and galactose.

The acidic polysaccharides were also isolated from the mucilage of leaves of *Plantago lanceolata*, which are composed of galacturonic acid, galactose, arabinose, glucuronic acid, glucose and rhamnose.

The swelling index was determined according to the Ph.Jug.II. and IV, DAB 9, and Ph.Helv.VI, using 1.0 g, 0.5 g and 0.2 g of powdered material. In case of flowers of *Alcea rosea*, only 0.2 g of homogenized material was taken (with 1.0 g or 0.5 g values larger than 25 were obtained); and the swelling index shown in Table 2 was calculated from 0.2 g values.

The swelling index of Ispaghula seed (*Plantaginis ovatae semen*) and Ispaghula husk (*Plantaginis ovatae seminis tagumentum* or *testa*) were also determined according to the Ph.Jug.II. and IV, DAB 9, Ph.Eur. 2 and Ph.Helv. VI (Table 4).

Viscosity of the aqueous extracts was determined with a Oswald viscosimeter (Table 5). Our investigations showed mucilage from flowers of *Alcea rosea* to be superior to mucilages from flowers and leaves from *Malva silvestris* and *Malva alcea*.

(Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia)

Literatura – References

1. V. Milin i D. Kuštrak, Farm. glas. **59** (2003) 57–67.
2. H. Wagner und M. Wiesenauer, *Phytopharmaka und pflanzliche Homöopathika*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York 1995, 156.
3. I.Turowska et al., *Herba polonica*, **20** (1974) 25.
4. B.Classen and W.Blaschek, *Planta medica* **64** (1998) 640-644.
5. G.Franz, *Planta medica* **14** (1966) 90-110
6. G.Hegi, *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*, Band VI Teil, Carl Hanser Verlag, München, 1925, 453.
7. R. Hänsel, ●. Sticher, E. Steinegger, *Pharmakognosie – Phytopharmazie*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1999, 365.
8. N. Grainger Bisset and M. Wichtl, *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, medpharm – Stuttgart, CRC-Press London, New York, Washington, 2001, 379.
DAB 9 – Deutsches Arzneibuch, 9 (1986).
●AB 9 – Österreichisches Arzneibuch, 9 (1960), 68.
Ph. Helv. VI. – Pharmacopoea Helvetica, VI. (1971), 171.
Ph. Eur. – European Pharmacopoeia, 2 (1980), 4 (2002), 2. 8. 4.

Primljeno 6. II. 2003.