

## ЭФФЕКТ УСИЛЕНИЯ ПРОНИКАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ФЛАВОНОИДОВ БУЗИНЫ ЧЕРНОЙ ЦВЕТКОВ ПРИ СМЕШИВАНИИ ЖИДКИХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ И ИЗВЛЕЧЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ ОТГОНКИ ЭКСТРАГЕНТА И ПОВТОРНОГО РАСТВОРЕНИЯ

Климец Н.С., Лукашов Р.И.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра организации фармации, г. Минск*

**Ключевые слова:** жидкие и сухие экстракты, бузина черная (*Sambucus nigra*), степень проникновения, флавоноиды, диализные мембраны.

**Резюме:** целью работы было выявить проникающую способность флавоноидов бузины черной цветков через диализные мембраны при смешивании жидких извлечений и извлечений, полученных после отгонки экстрагента и повторного растворения. Показано, что комбинация жидких извлечений и извлечений после растворения сухих спиртовых экстрактов, улучшает проникающую способность флавоноидов.

**Resume:** the aim of the work was to reveal the penetrating ability of elderberry flavonoids in flowers through dialysis membranes when mixing liquid extracts and extracts obtained after distilling the extractant and re-dissolving. It is shown that the combination of liquid extracts and extracts after dissolution of dry alcohol extracts improves the penetrating ability of flavonoids.

**Актуальность.** Бузины черной цветки (*Sambucus nigra* flos) достаточно широко используются на территории Республики Беларусь как лекарственное растительное сырье (ЛРС). Данное ЛРС является перспективным источником полифенольных соединений (в частности, флавоноидов) [4], благодаря которым проявляется его антиоксидантная [3], антитирозинкиназная [2], гепатопротекторная, противодиабетическая активности. Также была доказана способность ингибировать процессы фотостарения кожи, вызванного воздействием ультрафиолета В (УФ-В) [4] и способность тормозить репликацию вирусов.

Известно, что при воздействии УФ излучения на кожу человека продуцируются активные формы кислорода (АФК), способные активировать различные биологические реакции. К одной из таких реакций относится активация тирозинкиназы через мобилизацию меланоцитстимулирующего гормона в организме, т.е., по сути, процесс меланогенеза. Меланоциты эпидермиса при воздействии патологических доз УФ начинают чрезмерно синтезировать меланин, однако существует Keap1-Nrf2/ARE белковый путь, удаляющий АФК при их повышенном уровне, работу которого и облегчают антиоксидантные агенты [5].

Вышеперечисленные факты являются основанием для определения проникающей способности флавоноидов извлечений бузины через кожные покровы с выявлением дальнейших перспектив использования данного ЛРС для разработки наружных лекарственных форм (ЛФ) с антиоксидантными свойствами. Чтобы определить алгоритм такой разработки необходимо в начале оценить гипотетическую степень их проникновения через кожные покровы, используя модели *in vitro*.

**Цель:** выявить проникающую способность флавоноидов бузины черной цветков через диализные мембраны при смешивании жидких извлечений и извлечений, полученных после отгонки экстрагента и повторного растворения.

**Задачи:** 1. Получить водно-этанольные, пропанольные и изопропанольные извлечения из бузины черной цветков; 2. Отогнать экстрагент для получения сухих экстрактов; 3. Растворить сухие экстракты в исходных экстрагентах. 4. Установить проникающую способность комбинаций нативных извлечений и извлечений, полученных после повторного растворения, на мембранных моделях.

**Материал и методы.** Исследования извлекающей способности в отношении флавоноидов летучих растворителей, приведенные ранее, позволили отобрать такие объемные доли экстрагентов, при которых содержание флавоноидов принимало максимальные значения: этанол 40%, пропанол 40%, изопропанол 40%. Жидкие извлечения на основе данных растворителей проявили высокую проникающую способность, поэтому для получения сухих экстрактов использовали их.

При получении сухих экстрактов на основе водно-этанольного, водно-пропанольного и водно-изопропанольного извлечений по 5,0 мл полученных извлечений (0,2 г (точная навеска) бузины черной цветков отвешивали, экстракцию проводили на водяной бане при температуре 60°C) помещали в выпарительную чашку в сушильный шкаф при температурах кипения абсолютных растворителей и отгоняли до полного их удаления. Далее полученные экстракты растворяли в 5,0 мл исходного жидкого извлечения, после чего фильтровали.

Для исследования проникающей способности флавоноидов через полупроницаемую мембрану (диализная мембрана фирмы SERVA: VISKING dialysis tubing – d=49mm), использовали пластиковые пробирки, которые заполняли 1,00 мл исследуемого извлечения и фиксировали участок мембраны, предварительно выдержанной в среде высвобождения (цитратный буферный раствор с pH 5,5). Пробирка с извлечением и зафиксированной мембраной переворачивалась и помещалась в емкость с 10,0 мл среды высвобождения, касаясь поверхности жидкости. Образцы исследовали в термостате (производили периодическое перемешивание, но основным фактором, ускоряющим процессы диффузии через мембрану была температура 37 °C).

**Результаты и их обсуждение.** При установлении степени проникновения через полупроницаемую мембрану проводили реакцию на флавоноиды, которые высвобождались в цитратный буфер (оценивали в течении 6 ч, отбирая пробы каждый час). При этом количество флавоноидов устанавливали спектрофотометрически по фармакопейной реакции образования окрашенных комплексов с алюминия хлоридом, используя следующую формулу [1]:

$$X, \text{ мкг/мл} = \frac{A * \text{Срутина} * (10 + Y)}{A_{\text{ст}} * 10} \quad (1)$$

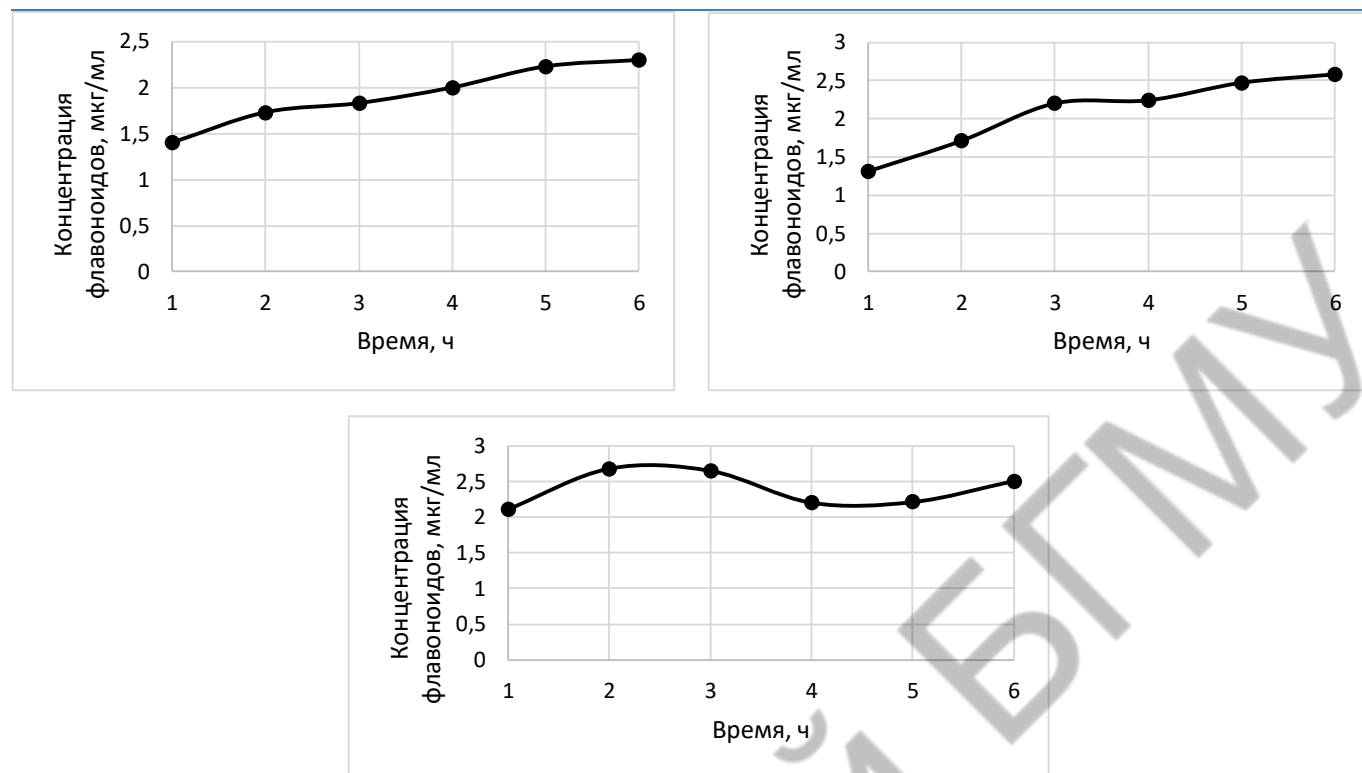
где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

A<sub>ст</sub> – оптическая плотность раствора рутина;

Срутина – концентрация рутина, мкг/мл;

Y – объем отобранной пробы из среды высвобождения, мл.

Т.к. учитывали динамику проникновения, полученные результаты представили в виде графиков (рисунок 1):



**Рис. 1** – степень проникновения флавоноидов водно-пропанольного (А), водно-изопропанольного (Б) и водно-этанольного (В) извлечений при комбинации жидких извлечений и извлечений после повторного растворения

При этом для сравнения в виде таблицы приведены данные проникновения (концентрации флавоноидов в мкг/мл) исходных жидких водно-спиртовых извлечений бузины черной цветков (таблица 1):

**Табл.1.** Степень проникновения исходных жидких водно-спиртовых извлечений

Время	Р-ль	Пропанол 40%	Изопропанол 40%	Этанол 40%
1 ч		0,35	0,19	0,42
2 ч		0,33	0,38	0,59
3 ч		0,37	0,39	0,79
4 ч		0,51	0,33	0,68
5 ч		0,62	0,4	0,84
6 ч		1,66	0,51	1,24

Таким образом, если сравнивать концентрации флавоноидов, прошедших через диализную мембрану в буферный раствор, видно, что исходные жидкие извлечения имели достаточно низкие абсолютные значения концентраций. Если же использовать комбинации жидких извлечений и извлечений, из которых отогнали экстрагент и повторно в нем растворили сухой экстракт, то количество проникающих через мембрану флавоноидов вырастает. Следовательно, при дальнейшей разработке лекарственных форм с извлечениями из бузины черной цветков имеет смысл использовать жидкие и сухие экстракты в комбинации.

**Выводы:** 1. Полученные в результате исследовательской работы данные в дальнейшем позволят выбрать оптимальный экстрагент для извлечения наибольшего количества флавоноидов в зависимости от разрабатываемой лекарственной фор-

мы; 2. С помощью метода диализных мембран установлена способность флавоноидов проникать (в динамике) через полупроницаемую мембрану. Далее планируется оценить степень их проникновения через кожу. Таким образом, будет выбран экстрагент с наибольшей проникающей способностью и хорошей динамикой высвобождения, чтобы в дальнейшем разработать ЛФ на его основе с использованием гидрофильных и липофильных компонентов для достижения большей биодоступности при наружном применении.

### Литература

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): разработана на основе Европейской Фармакопеи. В 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». Т. 1: Общие методы контроля лекарственных средств / под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – 1220 с.; Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья / под. общ. ред. С.И. Марченко. – Молодечно: Тип. «Победа», 2016. – 1368 с.
2. Advances in the tyrosinase inhibitors from plant source / M. Bonesi, J. Xiao, R. Tundis et al. // *Current Medicinal Chemistry*. – 2019. – №18. – P. 3279-3299.
3. Buřičová, L. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants / L. Buřičová, Z. Reblova // *Czech J Food Sci*. – 2008. – №. 2. – P. 138.
4. Sambucusnigra L. ameliorates UVB-induced photoaging and inflammatory response in human skin keratinocytes / P. Lin, E. Hwang et al. // *Cytotechnology*. – 2019. – №. 5. – P. 1003-1017.
5. Viapiana, A. The Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Infusions of Sambucusnigra L / A. Viapiana, M. Wesolowski // *Plant foods for human nutrition*. – 2017. – №. 1. – P. 82-87.