

*И.М. Солтан*

## **ПОВЫШЕНИЕ ЭКСТРАКЦИИ ФЛАВОЛИГНАНОВ ИЗ РАСТОРОПШИ ПЛОДОВ И ИХ ПРОНИКАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ IN VITRO**

*Научный руководитель: канд. фарм. наук, доц. Р.И. Лукашов*

*Кафедра фармацевтической химии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*I.M. Soltan*

## **INCREASING THE EXTRACTION OF FLAVOLIGNANS FROM MILK THISTLE FRUITS AND THEIR PENETRATING ABILITY IN VITRO**

*Tutor: associate professor R.I. Lukashou*

*Department of Pharmaceutical Chemistry*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Максимальный выход флаволигнанов наблюдался при экстракции 80% ацетоном, предварительной термической обработке сырья при 120°C, ультразвуковой обработке в течение 1 ч. Наилучшую проникающую способность показал сухой экстракт с суммой сапонинов солодки.

**Ключевые слова:** расторопша, экстракция, проникающая способность.

**Resume.** The maximum yield of flavolignans was observed during extraction with 80% acetone, preliminary heat treatment of plant raw materials at 120°C, ultrasonic treatment for 1 hour. The dry extract with the amount of licorice saponins showed the best penetrating ability.

**Keywords:** milk thistle, extraction, penetrating ability.

**Актуальность.** Плоды расторопши пятнистой являются уникальным источником получения биологически активных веществ, в частности флаволигнанов: силибинин, силидианин, силикристин и др.; флавоноидов; смол; жирных кислот и белков. Согласно Государственной фармакопее Республики Беларусь, экстракция суммы флаволигнанов расторопши проводится с использованием этилового спирта в концентрации 96% [3], однако в фармацевтической промышленности используются экстрагенты различной химической природы и физико-химических свойств. Флаволигнаны расторопши являются довольно устойчивой группой БАВ, ввиду чего исходное сырье может подвергаться различным видам обработки, позволяющим значительно повысить эффективность экстракции, и, соответственно, уменьшить объемы используемого ЛРС. Также силимарин обладает низкой биодоступностью при пероральном приеме (абсолютная биодоступность силибинина составляет порядка 0,95%) [1]. Поэтому перспективным направлением является поиск и разработка методов повышения биодоступности флаволигнанов и изучение характера их проникновения через полупроницаемые мембраны *in vitro*.

**Цель:** повышение экстракции флаволигнанов из расторопши плодов путем предварительной обработки сырья и подбора водно-органических экстрагентов с последующим изучением проникновения флаволигнанов на моделях *in vitro*.

**Материал и методы.** В качестве экстрагентов использовали метанол, этанол, пропанол-1, пропанол-2, ацетон, ацетонитрил, этиленгликоль, пропиленгликоль, глицерол, диметилсульфоксид (ДМСО) в объемных долях: 20, 40, 60, 80 и 100%, а также воду, бутанол-1, бутанол-2 и этилацетат. При исследовании влияния предварительной обработки сырья использовали этиловый спирт в объемной доле 70%. Экстракцию

проводили на водяной бане однократно в течение одного часа при соотношении сырья и экстрагента 1 к 50 при температуре 80°C. Содержание силимарина определяли спектрофотометрически, используя методику Государственной фармакопеи Республики Беларусь. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 289 нм.

В качестве имитации среды кишечника использовали лабораторные мембраны для диализа, приготовлен натрий-фосфатный буфер pH = 7,4 [2] с добавлением урсодезоксихолевой кислоты и панкреатина. Для модели системного кровотока использовали аналогичный буферный раствор, не содержащий желчных кислот и ферментов, pH = 7,4. Соотношение буферных растворов по объему 1 к 5.

В качестве поверхностно-активных веществ (ПАВ) для изучения их влияния на проникающую способность использовали лецитин соевый, натрия додецилсульфат (ДСН), а также сумму тритерпеновых сапонинов солодки, полученную путем экстракции ацетоном и азотной кислотой (20:1) с последующим осаждением суммы сапонинов водным раствором аммиака.

Инкубацию проводили при температуре 38,0°C в течение 6 часов. Отбор проб для спектрофотометрии проводили через 30, 60, 90, 120, 180, 270 и 360 мин.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе изучения водно-спиртовых экстрагентов экспериментально установлено, что в диапазоне объемных долей растворителя 60–100% максимальный выход флаволигнанов наблюдается при экстракции этанолом (5,61–6,67%), в диапазоне концентраций 20–40% – пропанолом-1 (3,02–5,41%). Использование воды в качестве экстрагента показало низкую эффективность экстракции в отношении флаволигнанов расторопши плодов (1,34%).

При изучении водно-органических экстрагентов выявлено, что 20% растворы показали меньшую экстрагирующую способность по сравнению с растворителями в диапазоне концентраций от 60 до 80%, ввиду чего дальнейшее использование первых для получения экстрактов является нецелесообразным.

Ацетон и ацетонитрил обладают наибольшим экстрагирующим потенциалом среди исследованных растворителей. Ацетон в объемной доле 80% позволяет извлечь в среднем на 30,9% (отн.) больше флаволигнанов по сравнению с фармакопейным экстрагентом – 96% этанолом. Среди 100% растворителей наибольший выход обеспечил ацетон (7,06%). Ввиду высокой летучести от него можно избавляться путем отгонки, что позволяет успешно использовать его для получения сухих экстрактов для получения ЛФ для внутреннего применения.

В ходе работы экспериментально установлено, что максимальный выход флаволигнанов наблюдался при: предварительной термической обработке сырья без и в упаковке в диапазоне температур 100-120 °С (5,07-5,32%) и в упаковке при 160 °С (5,31%) против 4,61% без обработки, а также ультразвуковой обработке сырья в течение 1 ч (5,79%). Ультразвуковая обработка расторопши плодов статистически значимо повышает последующую экстракцию флаволигнанов ( $p < 0,05$ ), что создает перспективы для дальнейшей работы в этом направлении.

Экспериментальным путем установлено, что добавление различных ПАВ в разной степени влияет на проникающую способность флаволигнанов *in vitro*. Наилучшую проникающую способность обеспечивает комбинация сухого экстракта с суммой сапонинов солодки (89,57% по массе), стандарта силимарина с сапонинами (85,75% по массе), сухого экстракта с соевым лецитином (84,37% по массе).

Наиболее низкими показателями проникновения обладают образцы с додецилсульфатом натрия. Силимарин в составе Легалон® 140, стандарта и сухого экстракта имеет проникающую способность на уровне 2,77%, 8,13% и 15,93% по массе соответственно. Добавление ДСН сдвигает пик концентрации с 90 на 120 минут, а также происходит четкое дифференцирование кривых, что может позволить использовать додецилсульфат натрия как модель для изучения всасывания силимарина.

Использование комбинированных ЛС на основе расторопши с лецитином, либо ЛС из расторопши с сапонидами солодки имеет теоретическое обоснование с двух позиций. Во-первых, это поможет повысить биодоступность силимарина при пероральном приеме, которая является достаточно низкой ввиду плохой растворимости флаволигнанов в воде. Во-вторых, глицирризиновая кислота в составе суммы сапонинов солодки, а также фосфолипиды в составе лецитина, сами по себе применяются для профилактики и лечения заболеваний печени, а комбинация данных веществ может значительно повысить терапевтический эффект препаратов на их основе.

**Заключение.** Среди водно-спиртовых экстрагентов максимальный выход флаволигнанов наблюдался при экстракции этанолом с объемной долей 96% (6,67%). Из списка водно-органических растворителей лучший результат показал ацетон в объемной доле 80% (8,73%). При предварительной термической обработке сырья без и в упаковке максимальный выход флаволигнанов наблюдался в диапазоне температур 100-120°C (5,07-5,32%) без упаковки и при 160°C (5,31%) в упаковке, а также при ультразвуковой обработке сырья в течение 1 ч (5,79%). Наилучшую проникающую способность обеспечивает комбинация сухого экстракта с суммой сапонинов солодки (89,57% по массе), стандарта силимарина с сапонидами (85,75% по массе) и сухого экстракта с соевым лецитином (84,37% по массе).

**Информация о внедрении результатов исследования.** По результатам настоящего исследования опубликовано 3 статьи в сборниках материалов, 2 тезиса докладов, 1 статья в журнале, получено 2 акта внедрения в образовательный процесс кафедр фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

### Литература

1. Drug-drug interactions of silymarin on the perspective of pharmacokinetics / J.-W. Wu [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2009. – № 121(2). – P. 185–193.
2. Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses / R. Dulbecco[et al.] // J. Exp. Med. – 1954. – № 99 (2). – P. 167-182.
3. Государственная Фармакопея Республики Беларусь / Министерство здравоохранения Республики Беларусь; Республиканское унитарное предприятие «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». – 2-е изд. – Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. – Минск, 2016. – 1367 с.