

РАСТВОРИМОСТЬ СИЛИМАРИНА В АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТАХ

Бутенко С.С. *, Лукашов Р.И.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск

*автор для переписки – s.butenka@yandex.by

Аннотация. Изучена растворимость силимарина и составляющих его индивидуальных флаволигнанов (силибинин, изосилибинин, силидианин и силикристин) в ряду из 8 алифатических спиртов (метанол, 96 % этанол, н-пропанол, изо-пропанол, н-бутанол, трет-бутанол, н-пентанол и н-октанол) при 25°C. Обнаружено значительное различие в растворимости индивидуальных флаволигнанов в алифатических спиртах $C_1 - C_8$. В частности, растворимость индивидуальных флаволигнанов растет в ряду силидианин < изосилибинины $A + B$ < силикристин $\approx$ силибинины $A + B$. В то же время, растворимость индивидуальных флаволигнанов практически не зависит от длины радикала алифатического спирта. Так, растворимость силикристина в алифатических спиртах $C_1 - C_8$ колеблется в диапазоне $11,3 \pm 0,7$ мг/г, силидианина - в диапазоне $2,7 \pm 0,1$ мг/г, а изосилибининов $A + B$ - в диапазоне $5,5 \pm 0,3$ мг/г. Растворимость силибининов $A + B$ не зависит от длины радикала алифатического спирта только в ряду $C_1 - C_4$ ($13,1 \pm 4,1$ мг/г), а затем уменьшается в два раза в ряду $C_4 - C_8$ ($6,1 \pm 0,5$ мг/г). В результате растворимость силибинина, как суммы всех флаволигнанов, в ряду алифатических спиртов $C_1 - C_4$ равна $33,1 \pm 3,9$ мг/г и уменьшается до $24,7 \pm 1,6$ мг/г в ряду алифатических спиртов $C_4 - C_8$.

Ключевые слова: спирты, растворимость, экстракт расторопши пятнистой, флаволигнаны, силимарин, силибинин, изосилибинин, силидианин, силикристин.

SOLUBILITY OF SILYMARINE IN ALIPHATIC ALCOHOLS

Butenka S.S. *, Lukashou R.I.

Belarusian State Medical University, Minsk

*corresponding autor - s.butenka@yandex.by

Abstract. The solubility of silymarin and its individual flavonolignans (silibinin, isosilibinin, silydianin and silychristin) was determined in a series of 8 aliphatic alcohols (methanol, 96% ethanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, tert-butanol, n-pentanol and n-octanol) at 25°C. A significant difference was found in the solubility of individual flavonolignans in aliphatic alcohols $C_1 - C_8$. In particular, the solubility of individual flavonolignans increases in the series silydianin < isosilibinins $A + B$ < silychristin $\approx$ silibinins $A + B$. At the same time, the solubility of individual flavonolignans is practically independent of the length of the aliphatic alcohol radical. Thus, the solubility of silychristin in aliphatic alcohols $C_1 - C_8$ is in the range of 11.3 ± 0.7 mg/g, silydianin - in the range of 2.7 ± 0.1 mg/g, and isosilibinins $A + B$ - in the range of 5.5 ± 0.3 mg/g. The solubility of silibinins $A + B$ does not depend on the length of the aliphatic alcohol radical only in the series $C_1 - C_4$ (13.1 ± 4.1 mg/g), and then decreases by half in the series $C_4 - C_8$ (6.1 ± 0.5 mg/g). As a result, the solubility of silymarin, as the sum of all flavonolignans, in the series of aliphatic alcohols $C_1 - C_4$ is 33.1 ± 3.9 mg/g and decreases to 24.7 ± 1.6 mg/g in the series of aliphatic alcohols $C_4 - C_8$.

Key words: alcohols, solubility, milk thistle extract, flavolignans, silymarin, silibinin, isosilibinin, silydianin, silicristin.

Введение

В последние годы ведется активный поиск соединений, обладающих гепатопротекторными свойствами. В научной литературе описывается большое количество таких соединений (de la Riva et al., 2018). В отличие от многих других соединений, претендующих на эту роль, флаволигнаны расторопши пятнистой (силимарин) обладают доказанными гепатопротекторными свойствами (de Avelar C.R. et al., 2023; Kheong Ch.W. et al., 2017; Yang Z. et al., 2014). Кроме гепатопротекторной активности силимарин обладает

широким спектром других фармакологических свойств (Porwal O. at al., 2019; Le Q.-U. at al., 2018).

Не смотря на такое разнообразие свойств, на мировом фармацевтическом рынке силимарин представлен только двумя лекарственными формами. Это сухой экстракт расторопши пятнистой для перорального применения, представленный такими продуктами, как LEGALON (Madaus) и его аналоги, и, силибинина гемисукцинат динатриевая соль – водорастворимая форма для внутривенного применения (LEGALON-SIL, Madaus).

Кроме того, силимарин в виде сухого экстракта обладает очень низкой растворимостью в воде при физиологических pH, и, как следствие, очень низкой биодоступностью (Barzaghi N. at al., 1990).

В литературе описано большое количество способов повышения биодоступности силимарина (Chen Zh. at al., 2023), но информация о физико-химических свойствах силимарина очень разрознена и представлена очень скупо. Даже в таких базах данных, как PubChem и DrugBank Online физико-химические свойства силимарина представлена только оценочными, теоретически вычисленными, а не экспериментальными данными.

Цель работы - заполнить недостающие пробелы в экспериментальных данных. В данной работе изучена растворимость силимарина и индивидуальных флаволигнанов силибининов А + В, изосилибининов А + В, силидианина и силикрстина в линейке из 8 алифатических спиртов (метанол, этанол, н-пропанол, изо-пропанол, н-бутанол, трет-бутанол, н-пентанол и н-октанол) при 25°C.

Материалы и методы

Материалы и оборудование. Сухой экстракт расторопши пятнистой с содержанием силимарина 50,0 – 60,0 % (INDENA S.p.A., Италия). Все спирты, включая метанол, н-пропанол, изо-пропанол, н-бутанол, трет-бутанол, н-пентанол, н-октанол, квалификацией не ниже чда (Sigma – Aldrich, Германия), спирт этиловый 96 % по ГОСТ 5962-2013, сухой экстракт расторопши аналитический стандарт Европейской Фармакопеи, высокоэффективный жидкостной хроматограф с диодно-матричным детектором Agilent 1100 под управлением ChemStation for LC 3D systems Rev. B.04.03-SP1 (108) (Agilent Technologies, США), термошейкер TS-100 (BioSan, Латвия).

Определение растворимости. Для определения растворимости использовали стандартный метод «встряхивающей колбы». В пластиковые пробирки с укупоривающимися пробками типа «Эппендорф» вносили избыток сухого экстракта расторопши пятнистой и 2,0 мл соответствующего спирта, пробки укупоривали и инкубировали на лабораторном термошейкере при 900 об/мин и 25,0°C в течение 24,0 ч, центрифугировали при 10'000 g в течение 30 мин.

Хроматографическое определение. Количественное определение силимарина и индивидуальных флаволигнанов в соответствующих спиртах проводили методом ВЭЖХ по фармакопейной методике (ФС 07/2016:1860 «Расторопши плоды») с изменениями. Разделение проводили на хроматографической колонке WATERS XBridge C18 (4,6x100 мм, 3,5 мкм) при 30°C. Бинарная система элюентов состояла из 0,1 % раствора муравьиной кислоты в воде (А) и 0,1 % раствора муравьиной кислоты в метаноле (В). Условия элюирования были следующие: 0 мин, 36,5 % В; 9,0 – 10,0 мин, 50,0 % В; уравнивание системы 10,1 – 15,0 мин. Скорость потока подвижной фазы была 1,5 мл/мин и детектирование проводилось при 288 нм.

Результаты и обсуждение

Поскольку гепатопротекторной активностью обладают все флаволигнаны и промышленность производит силимарин в виде сухого экстракта с массовой долей порядка 50 %, было принято решение не выделять отдельные флаволигнаны из смеси, а изучать растворимость силимарина *as is* в смеси.

Растворимость в каждом растворителе изучалась в квартетах, контролировалось содержание осадков на наличие всех компонентов смеси.

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Из полученных результатов видно, что растворимость индивидуальных флаволигнанов сильно отличается друг от друга. В частности, растворимость падает в ряду силибинины А + В $\approx$ силикристин > изосилибинины А + В > силидианин.

В то же время растворимость индивидуальных флаволигнанов остается практически постоянной в алифатическом ряду спиртов от С₁ до С₈, то есть, не зависит от длины алкильного радикала для силикристина, изосилибининов А + В и силидианина.

Растворимость силибининов А + В в ряду метанол – этанол – н-пропанол – изопропанол – н-бутанол остается постоянной, но, далее, с ростом разветвления или длины алкильной цепи (трет-бутанол – н-пентанол – н-октанол) уменьшается.

Таблица 1 – Растворимость индивидуальных флаволигнанов в алифатических спиртах при 25°С, мг/г (Р = 95 %, n = 4)

№ п.п.	Спирты	Силикристин	Силидианин	Силибинин А+В	Изосилибинин А+В	Силибин
1.	Метанол	12,0 $\pm$ 0,2	2,80 $\pm$ 0,04	11,5 $\pm$ 0,2	5,8 $\pm$ 0,1	32,1 $\pm$ 0,4
2.	96 % Этанол	11,9 $\pm$ 0,2	2,76 $\pm$ 0,05	9,4 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,1	29,7 $\pm$ 0,5
3.	н-Пропанол	11,4 $\pm$ 0,3	2,66 $\pm$ 0,08	17,2 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,2	36,9 $\pm$ 0,7
4.	і-Пропанол	11,9 $\pm$ 0,1	2,78 $\pm$ 0,03	16,5 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,1	37,0 $\pm$ 0,2
5.	н-Бутанол	10,9 $\pm$ 0,1	2,53 $\pm$ 0,03	11,0 $\pm$ 0,1	5,3 $\pm$ 0,1	29,7 $\pm$ 0,2
6.	т-Бутанол	11,5 $\pm$ 0,9	2,7 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,4	26,3 $\pm$ 2,1
7.	н-Пентанол	10,7 $\pm$ 0,2	2,58 $\pm$ 0,05	6,3 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,1	24,6 $\pm$ 0,4
8.	н-Октанол	10,3 $\pm$ 0,6	2,5 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,3	4,9 $\pm$ 0,3	23,2 $\pm$ 1,3

Закключение

Растворимости индивидуальных флаволигнанов в алифатических спиртах С₁ – С₈ растет в ряду силидианин < изосилибинины А + В < силикристин $\approx$ силибинины А + В.

Растворимость индивидуальных флаволигнанов практически не зависит от длины радикала алифатического спирта в ряду С₁ - С₈ для силикристина (11,3 $\pm$ 0,7 мг/г), силидианина (2,7 $\pm$ 0,1 мг/г) и изосилибининов А + В (5,5 $\pm$ 0,3 мг/г).

Растворимость силибининов А + В не зависит от длины радикала алифатического спирта в ряду С₁ – С₄ (13,1 $\pm$ 4,1 мг/г), а затем уменьшается в два раза в ряду алифатических спиртов С₄ - С₈ (6,1 $\pm$ 0,5 мг/г).

В результате растворимость силибинина, как суммы всех флаволигнанов, в ряду алифатических спиртов С₁ – С₄ равна 33,1 $\pm$ 3,9 мг/г и уменьшается до 24,7 $\pm$ 1,6 мг/г в ряду алифатических спиртов С₄ – С₈.

Полученные результаты можно использовать при разработке новых лекарственных средств на основе флаволигнанов расторопши.

Авторы не сообщили о потенциальном конфликте интересов.

Список литературы

1. ФС 07/2016:1860 «Расторопши плоды» // Государственная фармакопея Республики Беларусь II издания. Том 2. Молодечно: «Типография Победа», 2016. – стр.1296-1298;
2. Barzaghi N. at all. Pharmacokinetic studies on IdB 1016, a silybin- phosphatidylcholine complex, in healthy human subjects. / N. Barzaghi, F. Crema, G. Gatti, G. Pifferi, E. Perucca // European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. –1990. –Vol.15. –No.4. –P.333-8. DOI: 10.1007/BF03190223;
3. Chen Zh. at all. A comparative study on the preparation and evaluation of solubilizing systems for silymarin. / Zh. Chen, W. Gao, X. Feng, G. Zhou, M. Zhang, L. Zeng, X. Hu, Zh. Liu, H. Song // Drug Delivery and Translational Research. –2023 DOI: 10.1007/s13346–023-01476-8;
4. de Avelar C.R. at all. Efficacy of silymarin in patients with non-alcoholic fatty liver disease — the Siliver trial: a study protocol for a randomized controlled clinical trial. / C.R. de Avelar, B.V. Coelho Nunes, B. da Silva Sassaki, M. Dos Santos Vasconcelos, L.P. Magalhães de Oliveira, A.

- Castro Lyra, A. Amador Bueno, R. Passos de Jesus // *Trials*. – 2023. – Vol.24, – No.1, –P. 77-187. DOI: 10.1186/s13063-023-07210-6;
5. de la Riva G.A. at all. Known Hepatoprotectors Act as Antioxidants and Immune Stimulators in Stressed Mice: Perspectives in Animal Health Care. / G.A. de la Riva, F.J. López Mendoza, G. Guillermin Agüero-Chapin // *Current Pharmaceutical Design*. – 2018. – Vol.4, –No.40. – P.4825-4837. DOI: 10.2174/1381612825666190116151628;
6. Kheong Ch.W. at all. A Randomized Trial of Silymarin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis / Ch.W. Kheong, N. Raihan NM, S. Mahadeva // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2017. – Vol.15, – No.12, – P.1940–1949. DOI: 10.1016/j.cgh.2017.04.016. Epub 2017 Apr 15;
7. Le Q.-U. at all. Phytoconstituents and pharmacological activities of *Silybum marianum* (Milk Thistle): A critical review. / Q.-U. Le, H.-L. Lay, M.-Ch. Wu, R.K. Joshi // *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. – 2018. – Vol.6. – No.4. – P.41-47. URL: https://www.researchgate.net/publication/331438694_Phytoconstituents_and_pharmacological_activities_of_Silybum_marianum_Milk_Thistle_A_critical_review (дата обращения:12.04.2024);
8. Porwal O. at all. *Silybum marianum* (Milk Thistle): Review on Its chemistry, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities. / O.Porwal, M. Sheet, E. Tariq AB, S. Uthirapathy, J. Ahamad, A. Tahsin // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2019. – Vol.9. – No.5. –P.199-206. DOI: 10.22270/jddt.v9i5.3666;
9. Yang Z. at all. Effects and Tolerance of Silymarin (Milk Thistle) in Chronic Hepatitis C Virus Infection Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. / Z. Yang, L. Zhuang, Y. Lu, Q. Xu, X. Chen // *BioMed Research International*. –2014. – Vol.2014. – P.1-9. DOI: 10.1155/2014/941085;
10. Silibinin в базе PubChem / URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31553> (дата обращения:12.04.2024);
11. Silibinin в базе DrugBank Online / URL: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09298> (дата обращения:12.04.2024).



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»**

**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ**

**ДОСТИЖЕНИЯ И
ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ
НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СРЕДСТВ
РАСТИТЕЛЬНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

6 - 7 июня 2024 года

Москва, 2024