

Д.В. РОСИХИН, В.А. КУРКИН, В.М. РЫЖОВ

Самарский государственный медицинский университет

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ОБОСНОВАНИЮ КОМПЛЕКСНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

В настоящей работе обсуждаются результаты исследований по обоснованию комплексного использования расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). В результате проведенных исследований изучены основные подходы получения растворимой формы силимарина. Изучены перспективные сорта расторопши пятнистой с наиболее высоким содержанием флаволигнанов. Рассмотрены подходы по повышению биодоступности силимара для включения их в трансдермальные лекарственные формы.

Ключевые слова: *расторопша пятнистая, Silybum marianum* (L.) Gaertn., плоды, флаволигнаны, силибин, силимар, силимарин

Росихин Данил Владимирович - очный аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. E-mail: rocksymbol@mail.ru

Куркин Владимир Александрович - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии.

E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Рыжов Виталий Михайлович - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. E-mail: lavr_rvm@mail.ru

D.V. ROSIKHIN, V.A. KURKIN, V.M. RYZHOV

Samara State Medical University

PHARMACOGNOSTIC STUDY ON SUBSTANTIATION OF MULTIPLE USING OF SILYBUM MARIANUM (L.) GAERTN

In the present paper the results of investigations on substantiation of multiple using of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] are discussed. As a result of the conducted research, the flagship approaches to produce soluble silymarin were studied. Perspective sorts of milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] with the highest content of flavolignans were examined. The approaches to increase the bioavailability of silymar for inclusion in transdermal dosages forms were considered.

Key words: *milk thistle, Silybum marianum* (L.) Gaertn., fruits, flavolignans, silybin, silymar, silymarin

Danil Rosikhin - postgraduate student, department of pharmacognosy with botany and basis of phytotherapy. E-mail: rocksymbol@mail.ru

Vladimir Kurkin - dr. sci. of pharmacy, professor, head of department of pharmacognosy with botany and basis of phytotherapy. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Vitalij Ryzhov - candidate of pharmaceutical sciences, assistant professor of the department of pharmacognosy with botany and basis of phytotherapy. E-mail: lavr_rvm@mail.ru

К числу перспективных растений - источников лекарственного сырья - относится расторопша пятнистая (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), содержащая уникальную группу биологически активных соединений – флаволигнаны, которые сочетают в себе широкий спектр биологической активности и безвредность [1-9].

Одним из важных направлений комплексного использования расторопши пятнистой является изучение возможности создания водорастворимой субстанции силимарина для использования инъекционной лекарственной формы при острых токсических поражениях печени. Зарубежный опыт показывает высо-

кую терапевтическую эффективность при использовании водорастворимой соли силимарина (препарат «Legalon-Sil»), а именно: при отравлении ядами бледной поганки, также в результате отравлений галогенсодержащими органическими растворителями, такими как четыреххлористый углерод, трихлорэтилен, хлороформ. Создание водорастворимого комплекса силимарина, представляющего собой смесь флаволигнанов силибина, силидианина и силикристина [6], позволило бы увеличить его биодоступность и как следствие - шанс благоприятного исхода при лечении пациента с различными заболеваниями печени.

Важным вопросом по комплексному использованию расторопши пятнистой является создание фармацевтических композиций силимарина для включения их в трансдермальные лекарственные формы (аэрозоли, спреи, лосьоны). Было доказано, что силимарин предотвращает канцерогенез и рост опухоли клеток кожи, в частности путем удаления свободных радикалов и активных форм кислорода [6].

Не менее актуальным аспектом в плане обоснования комплексного использования расторопши пятнистой является сравнительное изучение химического состава плодов расторопши и масла расторопши различных сортов. Данный вопрос позволит выявить наиболее ценные сорта (хеморасы) расторопши с высоким содержанием ведущих флаволигнанов, а также выявить сорта данного растения с наиболее высоким содержанием конкретных триглицеридов.

На сегодняшний день малоизученным сырьем остается надземная часть расторопши пятнистой, а именно трава данного растения. На наш взгляд, представляется перспективным изучение химического состава травы расторопши пятнистой, а также выделение биологически активных соединений из данного вида сырья.

Цель настоящей работы - научное обоснование целесообразности комплексного использования расторопши пятнистой.

Материалы и методы исследования: «Силимар» (субстанция), производство которого осуществляется в условиях ЗАО «Самаралектравы» (п. Антоновка, Самарская обл.), силибин, выделенный из плодов расторопши (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), а также 4 сорта плодов расторопши пятнистой: «Силиплант», «Дебют», «Старт» и плоды для контроля (плоды расторопши, собранные на фармакопейном участке кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии).

Исследования проводили с помощью адекватного набора методов анализа: экстракция, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия.

Результаты исследования и их обсуждение. Изучение возможности создания водорастворимой соли дигемисукцината силибина является наиболее актуальной задачей.

На наш взгляд, одним из перспективных методов получения растворимой соли на основе силимарина является реакция этерификации индивидуальных флаволигнанов, в частности силибина (рис.1) с ангидридом янтарной кислоты.

В настоящее время нами ведется количественная наработка индивидуальных флаволигнанов (силибин, силидианин, силикрин), которые будут использоваться в качестве субстанции для проведения дальнейших исследований.

Индивидуальные флаволигнаны получены в лабораторных условиях на базе кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии СамГМУ методом хроматографического разделения суммы флаволигнанов расторопши из сухого экстракта расторопши. Выделение соединений осуществлялось с использованием различных экстракционных и хроматографических методов (колоночная хроматография с использованием силикагеля и полиамида). Для элюирования использовались водно-спиртовые и хлороформно-спиртовые системы в различных соотношениях. Для полноценной очистки использовали метод рехроматографии и перекристаллизация веществ.

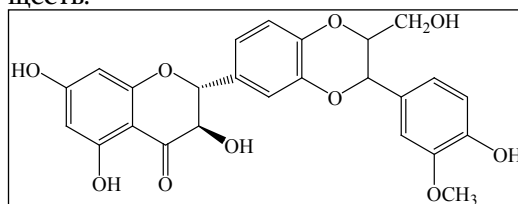


Рис.1. Структурная формула силибина

В дальнейшем планируется разработать схемы реакций этерификации с конкретными флаволигнанами.

Разработка фармацевтических субстанций на основе силимарина как дерматопротектора с высокой биологической доступностью, показанного при воздействии различных неблагоприятных факторов на кожу человека, также является важной частью комплексного использования расторопши.

Объектом исследования являлись смеси силимарина с солюбилизующим агентом – стеаратом натрия в разных количественных соотношениях. (10%, 20%, 30%, 40%, 50%). Биодоступность оценивали методом равновесного диализа. Диализной жидкостью являлись вода очищенная (pH=7,0) и буферный раствор калий виннокислый (pH=3,56), имитирующий слабокислую среду кожного покрова. Контроль за высвобождением флаволигнанов осуществлялся методом спектрофотометрии при длине волны 289 нм в пересчете на ГСО силибин.

Пробы образцов помещали в диализные трубки в виде суспензии. Данный способ введения имитировал нанесение

мыла на кожный покров. Нами оценивался показатель проницаемости (С%), как отношение количества флаволигнанов силимарина, прошедших через мембрану (m), к количеству введенного вещества в диализную трубку (m₀).

$$C\% = \frac{m \times 100\%}{m_0}$$

По результатам исследований была построена фармакокинетическая кривая проницаемости флаволигнанов (С%) к времени с момента введения пробы в минутах для контрольной среды – рН=7 (вода очищенная). Результаты исследования показали прямую зависимость высвобождения флаволигнанов от количественного содержания ПАВ (натрия стеарат) (рис. 2).

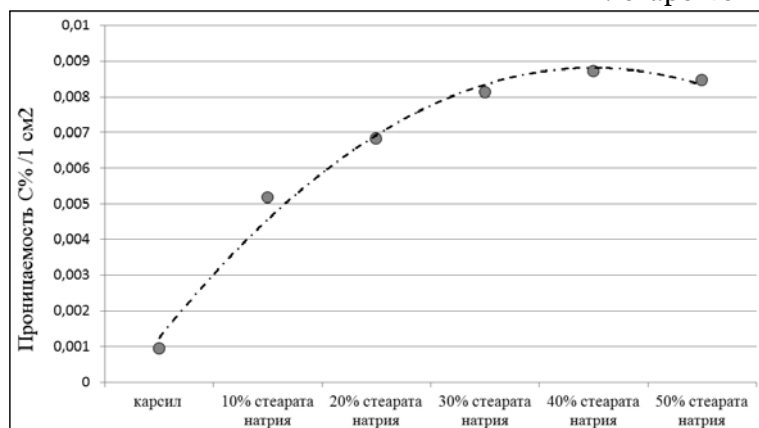


Рис. 2. Зависимость проницаемости флаволигнанов из модельных смесей от концентрации натрия стеарата (рН =7)

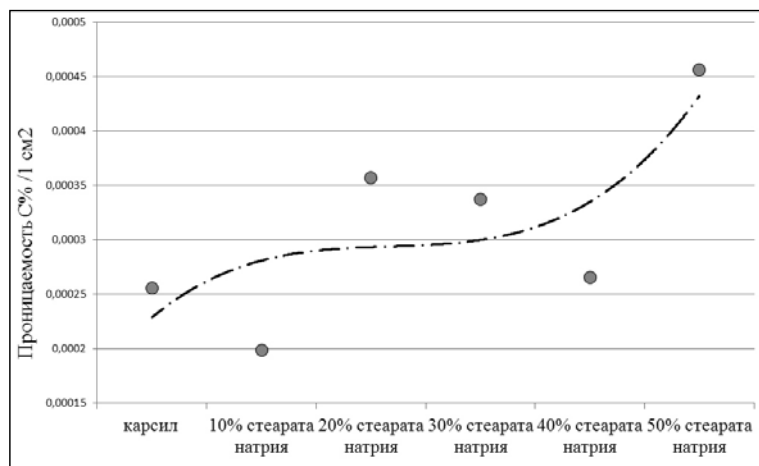


Рис. 3. Зависимость проницаемости флаволигнанов из модельных смесей от концентрации натрия стеарата (рН =3,56)

Составы с большим содержанием натрия стеарата (40%, 50%) показал наибольшую проницаемость относительно других составов. Наименьшая проницаемость характерная для карсила, не содержащего ПАВ (рис. 2).

Кривая зависимости проницаемости от концентрации стеарата в модельной смеси имеют положительную динамику. При этом общий уровень проницаемости через мембрану значительно снижен (рис. 3).

На наш взгляд, выявление сортовых культур расторопши пятнистой с наиболее высоким содержанием флаволигнановых структур является важным вопросом при решении проблемы комплексного использования расторопши. Изучение данного вопроса позволит научно обосновать использование конкретного сорта расторопши пятнистой для получения лекарственных препаратов с более

высоким содержанием флаволигнанов.

Количественное определение флаволигнанов сырья проводили методом прямой спектрофотометрии при длине волны 289 нм в пересчете на ГСО Силибин [2-4].

Около 1,0 г (точная навеска) воздушно-сухого сырья, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм по ТУ 23.2.2068-89, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и прибавляют 50 мл 95-процентного спирта и взвешивают на тарирных весах с точностью до ±0,01. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 мин. Затем содержимое колбы отстаивают 30 мин, после охлаждения до комнатной температуры колбу взвешивают и доводят ее содержимое 95-процентным спиртом до первоначальной массы. Фильтруют через бумаж-

ный фильтр с красной полосой во флакон темного стекла (раствор А).

1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 95-процентным спиртом до метки (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 289 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

В качестве раствора сравнения используют 95-процентный спирт. Параллельно измеряют оптическую плотность спиртового раствора Б ГСО силибина при длине волны 289 нм. Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \times m_0 \times 2 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times (100 - W)},$$

где D - оптическая плотность испытуемого раствора (раствор Б);

D₀ - оптическая плотность раствора ГСО силибина;

m - масса сырья, г;

m₀ - масса ГСО силибина, г;

W - потеря в массе при высушивании сырья, %.

Приготовление раствора ГСО силибина. Около 0,02 г (точная навеска) ГСО силибина (ФС 42-0072-01) растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 80 мл 95-процентного спирта при нагревании на водяной бане при температуре от 70 до 80°С. Раствор охлаждают, доводят объем раствора до метки 95-процентным спиртом и перемешивают (раствор А). 1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 95-процентным спиртом и перемешивают (раствор Б). Срок годности раствора 1 месяц.

Количественное определение флаволигнанов в жоме плодов расторопши пятнистой проводили в шести повторностях. Результаты представлены в таблице.

Таблица

Результаты количественного определения суммы флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой (урожай 2014 г.)

Сорт расторопши пятнистой	Навеска, Г	D	X, %
Плоды (контроль)	1,0032	1,227564	3,40
Плоды сорта «Силиплант»	1,0049	1,416313	3,90
Плоды сорта «Дебют»	1,0060	1,361747	3,80
Плоды сорта «Старт»	1,0230	1,642393	4,50

Нами проведен количественный анализ методом спектрофотометрии четырех сортов плодов расторопши пятнистой: «Силиплант», «Дебют», «Старт» и плоды для контроля (плоды, собранные на фармакопейном участке кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии СамГМУ). Спектральный анализ показал, что наиболее высокое содержание флаволигнанов в пересчете на силибин содержится в плодах сорта «Старт» 4,50%. Для плодов «Силиплант» содержание составило 3,90%, содержание флаволигнанов в плодах сорта «Дебют» составило 3,80%, а в плодах для контроля – 3,40%.

Заключение

1. Мировой опыт получения растворимых флаволигнанов расторопши пятнистой свидетельствует, что наиболее удобной, с точки зрения синтеза, является реакция этерификации индивидуальных флаволигнанов с ангидридом янтарной кислоты. В настоящее время нами разработаны методы получения индивидуальных флаволигнанов.

2. Стеарат натрия как компонент ПАВ при смешивании препарата «Силимар» повышает его проницаемость через полупроницаемую мембрану как в нейтральной, так и в кислой среде. Зависимость проницаемости флаволигнанов от концентрации добавляемого стеарата имеет параболическую структуру и показывает ограниченные возможности ввиду высокой степени деструкции при добавлении стеарата более 50 % смеси.

3. Установлено, что наиболее перспективным сортом из четырех сортов расторопши пятнистой по содержанию флаволигнанов (4,50%) является сорт «Старт».

Список литературы

1. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В. Итоги и перспективы исследований в области создания препаратов на основе лекарственного растительного сырья, содержащего фенилпропаноиды // Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности: мат-лы докл. Междунар. науч. конф. – Томск, 2000. С. 40-42.

2. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов.). 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.

3. Куркин, В.А. Расторопша пятнистая источник лекарственных средств (обзор) // Химико-фармацевтический журн. – 2003. Т. 37, № 4. С. 27 - 41.

4. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В., Рыжов В.М., Попова Л.Л., Грядунов П.Е. Расторопша пятнистая: Монография. – Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ», 2010. – 118 с.

5. Мизина П.Г., Куркин В.А., Турин Н.П. Пути совершенствования пролонгированных лекарственных форм // IV науч.-практ. конф. с междунар. участием «Экология и здоровье человека»: тез. докл. - Самара, 1997. С. 198-199.

6. Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Луценко Е.В., Быков В.А. Растительные флаволигнаны. Биологическая активность и терапевтический потенциал – М.: ОАО «Щербинская типография», 2006. - 236 с.

7. Рыжов В.М. Исследования по стандартизации и созданию лекарственных средств на основе плодов расторопши пятнистой [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.]: дис. канд. фарм. наук: 15.00.02. – Курск. 2009. 159 с.

8. Куркин В.А., Кулагин О.Л., Додонов Н.С. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды (статья) // Растительные ресурсы. – 2008. Т. 44, вып. 1. С. 122-129.

9. Kurkin V.A. Phenylpropanoids from Medicinal Plants: Distribution, Classification, Structural Analysis, and Biological Activity // Chemistry of Natural Compounds. – 2003. – Vol. 39. No. 2. P. 123-153.