

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582>
УДК 615.012



Оригинальная статья / Research article

Разработка технологии получения фитосубстанции расторопши пятнистой плодов (*Silybum marianum* L.) в качестве компонента комплексной терапии заболеваний печени

Б. А. Перес, А. П. Процюк, А. Б. Зеленцова, И. Е. Каухова,
М. В. Ароян✉, Е. К. Новикова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Ароян Мария Вахтанговна. E-mail: mariya.aroyan@pharminnotech.com

ORCID: Б. А. Перес – <https://orcid.org/0000-0001-9917-9538>; А. П. Процюк – <https://orcid.org/0009-0005-7820-7129>;
А. Б. Зеленцова – <https://orcid.org/0009-0006-2750-098X>; И. Е. Каухова – <https://orcid.org/0000-0002-0896-6956>;
М. В. Ароян – <https://orcid.org/0000-0002-8314-8398>; Е. К. Новикова – <https://orcid.org/0000-0002-2602-0697>.

Статья поступила: 18.09.2023

Статья принята в печать: 00.10.2023

Статья опубликована: 24.11.2023

Резюме

Введение. В настоящее время среди населения распространена проблема заболеваний печени, в особенности неалкогольной жировой болезни печени, а также лекарственных поражений печени. В связи с этим существует необходимость поиска новых решений в разработке препаратов гепатотропной терапии. В клинической практике нередко используются одновременно несколько гепатопротективных средств в виде отдельных препаратов или комбинаций. Комбинированное применение субстанций в одной готовой лекарственной форме (ГЛФ) может обеспечивать как усиление того или иного фармакологического эффекта, так и расширение спектра гепатотропного действия. В состав комбинированных гепатопротекторов часто вводят компоненты растительного происхождения. Плоды расторопши пятнистой содержат не менее 2,4 % суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, что обуславливает гепатопротекторный эффект лекарственных препаратов на их основе и объясняет перспективность использования данного растительного сырья в терапии заболеваний печени.

Цель. Разработка технологии получения сухого экстракта расторопши пятнистой плодов, обогащенного силибином.

Материалы и методы. Объектами исследования служили расторопши пятнистой плоды (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) от двух производителей, заготовленные в июне 2022 года. Показатели качества готового продукта, сухого экстракта расторопши пятнистой плодов, определяли по методикам, описанным в Государственной фармакопее (ГФ) РФ XIV изд. Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с ГФ РФ XIV, том I, с. 289, ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».

Результаты и обсуждение. Предложен эффективный метод экстрагирования лекарственного растительного сырья (ЛРС), позволяющий получить наибольший выход биологически активных веществ (БАВ). Предложен способ очистки спиртового извлечения после экстракции. Разработана технология получения сухого экстракта расторопши пятнистой плодов. Проведена стандартизация полученного сухого экстракта.

Заключение. В ходе исследования разработана технология получения сухого экстракта расторопши пятнистой плодов. Определены показатели качества фитосубстанции, сухого экстракта расторопши пятнистой плодов, обогащенного силибином.

Ключевые слова: расторопша пятнистая, экстрагирование, сухой экстракт, флаволигнаны, гепатотропная терапия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. П. Процюк и Б. А. Перес провели эксперименты по технологии получения сухого экстракта. А. Б. Зеленцова провела экспериментальную работу по определению показателей качества полученного продукта и статистическую обработку результатов. И. Е. Каухова, М. В. Ароян, Е. К. Новикова участвовали в планировании и обсуждении результатов исследования и интерпретации полученных данных. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Перес Б. А., Процюк А. П., Зеленцова А. Б., Каухова И. Е., Ароян М. В., Новикова Е. К. Разработка технологии получения фитосубстанции расторопши пятнистой плодов (*Silybum marianum* L.) в качестве компонента комплексной терапии заболеваний печени. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):101–110. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582>

Development of Technology of Phytosubstantiation of *Silybum marianum* L. Fruits as a Component of Complex Therapy of Liver Diseases

Bajron A. Peres, Anastasiya P. Procyuk, Anna B. Zelencova, Irina E. Kauhova,
Mariya V. Aroyan✉, Ekaterina K. Novikova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Mariya V. Aroyan. E-mail: mariya.aroyan@pharminnotech.com

© Перес Б. А., Процюк А. П., Зеленцова А. Б., Каухова И. Е., Ароян М. В., Новикова Е. К., 2023

© Peres B. A., Procyuk A. P., Zelencova A. B., Kauhova I. E., Aroyan M. V., Novikova E. K., 2023

ORCID: Bajron A. Peres – <https://orcid.org/0000-0001-9917-9538>; Anastasiya P. Procyuk – <https://orcid.org/0009-0005-7820-7129>;
Anna B. Zelencova – <https://orcid.org/0009-0006-2750-098X>; Irina E. Kauhova – <https://orcid.org/0000-0002-0896-6956>;
Mariya V. Aroyan – <https://orcid.org/0000-0002-8314-8398>; Ekaterina K. Novikova – <https://orcid.org/0000-0002-2602-0697>.

Received: 18.09.2023 Revised: 00.10.2023 Published: 24.11.2023

Abstract

Introduction. Currently, the problem of liver diseases is widespread among the population, especially non-alcoholic fatty liver disease, as well as medicinal liver lesions. In this regard, there is a need to find new solutions in the development of hepatotropic therapy drugs. In clinical practice, several hepatoprotective agents are often used simultaneously in the form of separate drugs or combinations. The combined use of substances in one finished dosage form (FDF) can provide both an enhancement of a particular pharmacological effect and an expansion of the spectrum of hepatotropic action. Components of plant origin are often introduced into the composition of combined hepatoprotectors. *Silybum marianum* L. fruits contain at least 2.4 % of the amount of flavolignans in terms of silybin, which causes the hepatoprotective effect of medicines based on them and explains the prospects of using this vegetable raw material in the treatment of liver diseases.

Aim. Development of technology for obtaining a dry extract of *Silybum marianum* L. fruit, enriched with silybin.

Materials and methods. The objects of the study were *Silybum marianum* (L.) Gaertn. fruits from producer 2, harvested in June 2022. The quality indicators of the finished product, a dry extract of *Silybum marianum* (L.) fruit, were determined by the methods described in the SP XIV ed. Statistical processing of the research results was carried out in accordance with SP XIV ed., Volume I, p. 289, GM.1.1.0013.15 "Statistical processing of the results of a chemical experiment".

Results and discussion. The optimal method of extraction of medicinal plant raw materials is proposed, which allows to obtain the highest yield of biologically active substances. A method of purification of ethanol-water extraction after extraction is proposed. The technology of dry extract of *Silybum marianum* (L.) fruit has been developed. Standardization of the obtained dry extract was carried out.

Conclusion. In the course of the study, the technology of dry extract of *Silybum marianum* (L.) fruit was developed. The quality indicators of phytosubstantiation, dry extract of *Silybum marianum* (L.) fruits enriched with silybin were determined.

Keywords: *Silybum marianum* (L.), extraction, flavolignan dry extract, hepatotropic therapy

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Anastasiya P. Procyuk and Bajron A. Peres conducted experiments on the technology of obtaining a dry extract. Anna B. Zelencova conducted experimental work to determine the quality indicators of the resulting product and statistical processing of the results. Irina E. Kauhova, Mariya V. Aroyan, Ekaterina K. Novikova participated in the discussion of the results of the study and the interpretation of the data obtained. All the authors took part in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Peres B. A., Procyuk A. P., Zelencova A. B., Kauhova I. E., Aroyan M. V., Novikova E. K. Development of technology of phytosubstantiation of *Silybum marianum* L. fruits as a component of complex therapy of liver diseases. *Drug development & registration*. 2023;12(4):101–110. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582>

ВВЕДЕНИЕ

Печень является ключевым органом в метаболизме и выведении многих веществ, таких как липиды, ксенобиотики, загрязнители окружающей среды и химиотерапевтические средства. Заболевания, связанные с печенью, обычно характеризуются стеатозом, гепатитом, фиброзом и циррозом печени [1]. От 10 до 40 % людей не только в Российской Федерации, но и по всему миру страдают от заболеваний печени, а именно неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), 3–5 % страдают от неалкогольного стеатогепатита (НАСГ).

Большинство заболеваний связано с факторами образа жизни. Прогрессирование заболеваний печени приводит к таким осложнениям, как цирроз печени и рак, которые крайне негативно сказываются на качестве жизни и приводят к смерти.

В связи с этим актуальна проблема профилактики и лечения заболеваний печени, для чего используются гепатопротекторы [2, 3].

В клинической практике нередко используются одновременно несколько гепатопротективных средств в виде отдельных препаратов или комбинаций.

Комбинированное применение субстанций в одной ГЛФ может обеспечивать как усиление того или иного фармакологического эффекта, так и расширение спектра гепатотропного действия [4].

В состав комбинированных гепатопротекторов часто вводят компоненты растительного происхождения [5].

Установлено, что гепатопротекторной активностью обладают суммарные извлечения из расторопши пятнистой *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Экстракт расторопши в основном содержит флавонолигнаны, фла-

воноиды (таксифолин, кверцетин) и полифенольные молекулы, он обладает различными фармакологическими свойствами, в том числе гепатопротекторным, и используется для лечения заболеваний печени, включая алкогольную болезнь печени, неалкогольную жировую болезнь печени и лекарственную токсичность [6–8].

В плодах расторопши пятнистой содержится силимарин, который оказывает такие эффекты, как ускорение восстановления поврежденных клеток печени, снижение окисления жиров, нормализация липидного обмена, улучшение биохимических показателей, регуляция транспортировки биологических жидкостей на клеточном уровне, нейтрализация и выведение гепатотоксичных веществ [9–11]. Силибин, входящий в группу флаволигнанов, обладает также антиоксидантным, противовоспалительным и противовирусным действием [12].

Для разработки оригинального комбинированного гепатопротекторного средства, содержащего в составе экстракт расторопши пятнистой, проведена разработка технологии производства данной фитосубстанции, обогащенной силибином.

Согласно патенту RU2102999C1 «Способ получения экстракта расторопши пятнистой», экстракцию ведут 80%-м этиловым спиртом методом реперколяции сначала при комнатной температуре, затем при 60–85 °C [13].

Стоит отметить, что патент на это изобретение был опубликован в 1998 году, и, судя по анализу литературы, за последние 25 лет в России не проводилось разработок по повышению эффективности технологии получения сухого экстракта расторопши пятнистой плодов.

В связи с вышеизложенным **целью данного исследования** являлась разработка технологии экстрагирования расторопши пятнистой плодов и получения сухого экстракта расторопши, обогащенного силибином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены в период с сентября 2022 года по июнь 2023 года. Объектами исследования служили расторопши пятнистой плоды (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) от фирм-производителей № 1 и № 2, заготовленные в июне 2022 года.

Входной контроль качества растительного сырья проводили по следующим показателям: влажности (анализатор влажности «Эвлас-2М», Россия), общей золе, золе, нерастворимой в 10%-й соляной кислоте (печь муфельная лабораторная LOIP LF-7/13-G1, Россия), описанию, подлинности, содержанию экстрактивных веществ, сумме флаволигнанов в пересчете на силибин, жирному маслу. Анализ был проведен согласно требованиям ГФ РФ XIV [14].

Для получения сухого экстракта навеску лекарственного растительного сырья измельчают на электро- и корнерезке (ТУ 37-53 тип 622-1-М, Россия)

до размера частиц 1,0 мм, загружают в экстрактор, заливают экстрагентом – спиртом этиловым 80%-м в соотношении «сырье:экстрагент» (1:30). Затем настаивают в течение 30 минут, после чего доводят смесь до кипения и при умеренном кипении ведут экстракцию в течение 30 минут. По окончании процесса спиртоводная вытяжка отстаивается в течение 2 суток при температуре не выше 8 °C до осаждения балластных веществ с последующей фильтрацией (фильтр обеззоленный «Белая лента» d 110 мм, ООО «Мелиор», Россия). Профильтрованная вытяжка поступает в делительную воронку (ВД-1-2000 цилиндрическая, Россия) для проведения очистки от балластных веществ методом жидкостной экстракции. В качестве тяжелой фазы выступает спиртоводная вытяжка БАВ, в качестве легкой фазы – гексан (гексан чистый для анализа (C₆H₁₄), 110-54-3). Очищенное от балластных веществ спиртоводное извлечение подвергают концентрированию с последующим высушиванием в сушильном шкафу (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия). Полученный сухой экстракт с содержанием остаточной влаги не более 5 % анализировали по следующим показателям: описанию, потере в массе при высушивании (анализатор влажности «Эвлас-2М», Россия), насыпной плотности, сыпучести (ВР-12А, ТУ 64-7-260), подлинности, количественному содержанию суммы флаволигнанов (электроспектрофотометр UV mini-1240, Shimadzu, Япония), гигроскопичности. Анализ был проведен согласно методикам, приведенным в ГФ РФ XIV [14].

Определение остаточных органических растворителей (ООР) проводили методом газовой хроматографии в соответствии с ГФ РФ XIV, том I, ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители» на газовом хроматографе Clarus 680 (PerkinElmer Inc., США) с пламенно-ионизационным детектором. Для приготовления испытуемого образца около 0,5 г сухого экстракта (точная навеска) поместили во флакон для парового анализа, добавили 5,0 мл диметилсульфоксида (99,8 %, х. ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия) и герметично укупорили.

Приготовление стандартного раствора проводили следующим образом: 10 мкл стандартного образца гексана (гексан чистый для анализа (C₆H₁₄), 110-54-3) поместили в мерную колбу 50 мл и довели объем раствора диметилсульфоксидом (99,8 %, х. ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия) до метки. Полученный стандартный раствор разбавили в 20 раз. Аликвоту 5 мл этого стандартного раствора поместили во флакон для парового анализа и герметично укупорили.

Определение проводилось с использованием капиллярной колонки Elite-WAX ETR 60 м, 0,32 мм, 1 мкм, в условиях программирования температуры: 120 °C в течение 4 минут с увеличением температуры до 180 °C со скоростью 10 °C/мин, затем 5 минут при конечной температуре, температура инжектора – 120 °C, температура детектора (ионизационно-пла-

менный) – 220 °С, скорость потока газа-носителя (азот) – 2 мл/мин.

Для количественной оценки содержания гексана использовали метод внешнего стандарта.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с ГФ РФ XIV, том I, с. 289, ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения исследований были закуплены расторопши пятнистой плоды от двух фирм-производителей. В рамках входного контроля был проведен сравнительный анализ по показателям качества с целью выбора сырья расторопши пятнистой плодов с большим содержанием БАВ. Анализ проводился с использованием методик, описанных в ГФ РФ XI издания [14].

Полученные результаты определения показателей качества расторопши пятнистой плодов представлены в таблице 1.

Таким образом, анализ качества расторопши пятнистой плодов различных производителей показал

соответствие качества сырья требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [14]. Однако сырье, полученное от производителя 2, содержало большее количество суммы флаволигнанов и было использовано в дальнейшем исследовании по разработке технологии получения экстракта расторопши пятнистой плодов.

Основным биологически активным веществом, содержащимся в расторопши пятнистой плодах, является силимарин – природная композиция БАВ, состоящая главным образом из флаволигнанов и флавоноидов. Одним из главных компонентов силимарина выступает силибин, по которому проводят стандартизацию плодов и получаемого сухого экстракта. Поэтому целью разработки технологии получения фитосубстанции является выбор метода и условий экстракции и способа очистки, при которых выход сухого экстракта, обогащенного силибином, будет максимальным.

Для выбора условий экстрагирования были проведены следующие исследования: выбор экстрагента, выбор метода экстракции, время экстракции, соотношение «сырье:экстрагент».

Таблица 1. Результаты сравнительного изучения показателей качества расторопши пятнистой плодов

Table 1. The results of a comparative study of the quality indicators of *Silybum marianum* L. fruit

Наименование показателя The name of the indicator		Экспериментальные данные Results		Требования ГФ РФ XIV издания (ФС.2.5.0035.15) Requirement SP XIV ed. (GM 2.5.0035.15)
		Производитель «1» Manufacturer «1»	Производитель «2» Manufacturer «2»	
Описание Description		Цельное сырье. Плоды – семечки яйцевидной формы, слегка сдавленные с боков, длиной от 5 до 8 мм, шириной от 2 до 4 мм. Цвет от черного до светло-коричневого. Запах слабый Whole raw materials. The fruits are ovoid achenes, slightly compressed from the sides, 5 to 8 mm long, 2 to 4 mm wide. The color ranges from black to light brown. The smell is weak		
Определение основных БАВ Determination of the main BAS		На хроматограммах испытуемых растворов обнаруживаются зоны адсорбции фиолетового цвета на уровне зон адсорбции РСО силибина On the chromatograms of the tested solutions, purple adsorption zones are detected at the level of the adsorption zones of RS silybin		На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции РСО силибина, допускается обнаружение других зон адсорбции On the chromatogram of the test solution, a purple adsorption zone should be detected at the level of the adsorption zone of RS silybin, the detection of other adsorption zones is allowed
Влажность, % Humidity, %		1,01 ± 0,04	4,54 ± 0,18	Не более 12 No more 12
Зола общая, % Ash total, %		5,50 ± 0,28	5,46 ± 0,27	Не более 6 No more 6
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, % Ash insoluble in hydrochloric acid, %		3,65 ± 0,17	3,47 ± 0,16	Не более 4 No more 4
Количественное определение, % Quantitative content, %	Сумма флаволигнанов в пересчете на силибин Quantitative content of flavo lignans in terms of silybin	2,42 ± 0,01	5,47 ± 0,28	Не менее 2,4 No less 2,4
	Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 80%-м Extractive substances, ethanol 80 %	6,06 ± 0,36	10,79 ± 0,64	Не менее 4 No less 4
	Жирное масло Fatty oil	32,76 ± 1,64	29,17 ± 1,46	Не менее 15 No less 15

Также с целью получения очищенного сухого экстракта был рассмотрен способ очистки извлечения перед сушкой.

Согласно литературным данным, силимарин извлекается спиртом этиловым высокой концентрации [15]. В связи с этим была изучена степень извлечения суммы флаволигнанов в пересчете на силибин такими экстрагентами, как спирт этиловый 96%-й, спирт этиловый 80%-й и спирт этиловый 70%-й. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты количественного определения суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спиртоводных извлечениях после экстракции спиртом этиловым различной концентрации

Table 2. Results of quantitative determination of the amount of flavolignans in terms of silybin in alcohol-water extracts after extraction with ethanol of various concentrations

Концентрация спирта этилового, % Concentration of ethanol, %	96	80	70
Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % Quantitative content of flavolignans in terms of silybin, %	5,47 ± 0,28	6,64 ± 0,35	3,83 ± 0,19

Из представленных результатов видно, что наиболее полное извлечение биологически активных веществ достигается спиртом этиловым 80%-м.

Для сравнительного исследования были выбраны следующие методы экстрагирования с учетом особенностей состава ЛРС:

- мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане;
- мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением двухфазной системы экстрагентов (ДСЭ);
- ультразвуковая экстракция;
- ультразвуковая экстракция с применением ДСЭ.

Так как лекарственное растительное сырье содержит около 30 % жирного масла, помимо классических методов экстракции с одним экстрагентом были исследованы способы экстракции с применением двухфазной системы экстрагентов, где в качестве неполярного вещества был выбран гексан. Описание методов представлено ниже.

1. Ультразвуковая экстракция с применением ДСЭ (спирт этиловый 80%-й – гексан). Сырье измельчали до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%-го. Настаивали в течение 30 минут, после чего добавляли 30 мл гексана. Колбу с содержимым устанавливали в ультразвуковую ванну (ванна ультразвуковая ПСБ-1335-05, 35 кВт), нагрев до температуры 90–100 °С, и вели экстракцию в течение 10 минут. Затем извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр (фильтр обеззоленный «Белая

лента» d 110 мм, ООО «Мелиор», Россия). Во время экстракции наблюдалось эмульгирование при смешении экстрагентов, что в дальнейшем усложнило процесс фильтрации и разделения фаз.

Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин составило (4,26 ± 0,23) %.

2. Ультразвуковая экстракция. Сырье измельчали до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%-го. Настаивали в течение 30 минут. Колбу с содержимым устанавливали в ультразвуковую ванну, нагретую до температуры 90–100 °С, и вели экстракцию в течение 15 минут. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр (фильтр обеззоленный «Белая лента» d 110 мм, ООО «Мелиор», Россия).

Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин составило (3,92 ± 0,21) %. На основании анализа результатов можно сделать вывод о том, что применение ультразвука без кипения экстрагента не увеличивает эффективность экстракции.

3. Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80%-й – гексан, 1:1). Сырье измельчали до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 30 мл спирта 80%-го. Настаивали в течение 30 минут, после чего добавляли 30 мл гексана. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр (фильтр обеззоленный «Белая лента» d 110 мм, ООО «Мелиор», Россия). Эмульгирования экстрагентов не наблюдалось.

Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спиртоводной фазе составило (4,78 ± 0,26) %.

4. Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Точную навеску сырья измельчали до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 3,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом и прибавляли 150 мл спирта 80%-го. Настаивали в течение 30 минут. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Затем содержимое колбы охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр (фильтр обеззоленный «Белая лента» d 110 мм, ООО «Мелиор», Россия).

Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин составило $(4,97 \pm 0,27) \%$.

На основании анализа вышеизложенных результатов установлено, что больший выход по БАВ достигается при мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80%-й – гексан, 1:1) и мацерации с обратным холодильником на кипящей водяной бане.

Расторопши пятнистой плоды содержат также около 20 % водорастворимых белков, которые могут перейти в спиртоводное извлечение при экстрагировании спиртом этиловым 80%-м. Для очистки от водорастворимых балластных веществ полученное извлечение необходимо отстаивать при пониженной температуре (не более 8 °C) около 2 суток и после их осаждения профильтровать через бумажный фильтр.

Плоды расторопши содержат жирное масло в значительных количествах, поэтому для очистки получаемых извлечений стало необходимым добавить стадию очистки гексаном методом жидкостной экстракции в соотношении 1:1 (спиртоводное извлечение:гексан). Очищенное извлечение подвергали высушиванию.

Полученные сухие экстракты взвешивали и определяли содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин. Результаты представлены в таблице 3.

Таким образом, из всех исследованных методов экстракции расторопши пятнистой плодов самым эффективным с точки зрения выхода по сухому экстракту и его качеству является мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с последующей очисткой сначала отстаиванием при пониженной температуре, а далее гексаном методом жидкостной экстракции.

На основании анализа литературных данных для сравнения были выбраны следующие соотношения «сырье:экстрагент»: 1:10, 1:20, 1:30, 1:40 и 1:50. Экстракцию и количественное определение суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в спиртовод-

ных извлечениях проводили согласно методу, описанному ранее. Результаты представлены в виде диаграммы на рисунке 1.



Рисунок 1. Содержание БАВ в извлечении в зависимости от модуля экстракции

Figure 1. BAS content in extraction depending on the extraction module

Основываясь на результатах, можно сделать вывод о том, что при модуле экстракции 1:30, 1:40 и 1:50 увеличение выхода БАВ статистически незначимо, поэтому для дальнейших исследований выбран модуль экстракции 1:30.

Также была исследована зависимость степени извлечения БАВ от времени экстрагирования. Результаты представлены на рисунке 2.

На основании анализа содержания БАВ в извлечении в зависимости от времени экстракции можно

Таблица 3. Результаты определения массы сухого экстракта и количественного определения суммы флаволигнанов в пересчете на силибин

Table 3. Results of determination of dry extract weight and quantitative determination of the amount of flavolignans in terms of silybin

Метод экстракции Extraction method	Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с применением ДСЭ (спирт этиловый 80%-й – гексан) Maceration with a reverse refrigerator in a boiling water bath using two-phase solvent system (ethanol 80 % – hexane)	Мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане с последующей очисткой гексаном методом жидкостной экстракции Maceration with a reverse refrigerator in a boiling water bath followed by hexane purification by liquid extraction
Масса полученного сухого экстракта, г The mass of the resulting dry extract, g	$0,17 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01$
Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, % The content of the sum of flavolignans in terms of silybin, %	$67,17 \pm 3,63$	$71,24 \pm 3,85$

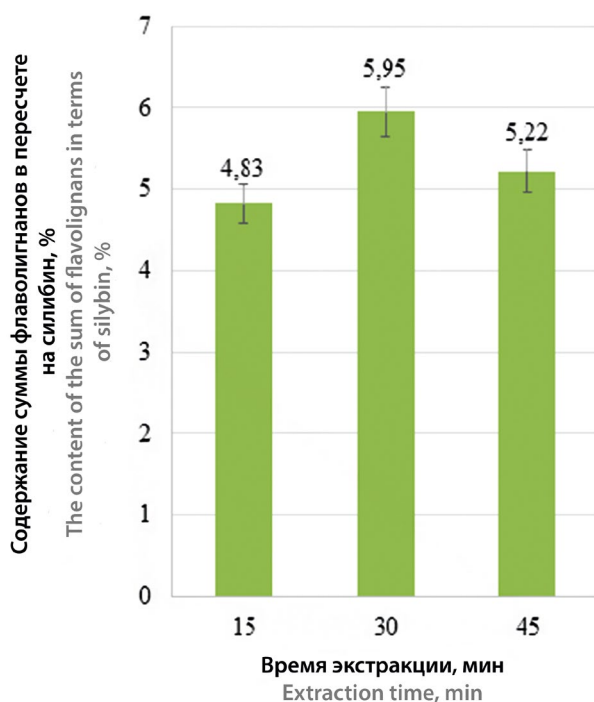


Рисунок 2. Содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в зависимости от длительности экстракции

Figure 2. The content of the sum of flavolignans in terms of silybin, depending on the duration of extraction

сделать вывод, что в течение 30 минут содержание суммы флаволигнанов в извлечении в пересчете на силибин и абсолютно сухое сырье достигает 5,95 %, а затем уменьшается.

По вышеизложенной методике был получен сухой экстракт плодов расторопши пятнистой и определены показатели качества согласно ГФ РФ XIV [14]. Результаты испытаний приведены в таблицах 4 и 5.

При оценке содержания остаточных органических растворителей изучали содержание гексана, как растворителя 2 класса токсичности, используемого в технологии получения сухого экстракта. Содержание гексана в независимых трех пробах сухого экстракта составило $(1,3 \pm 0,1)$ ppm.

Хроматограммы стандартного и испытуемого растворов представлены на рисунках 3, 4. Содержание гексана не превышает предельно заявленного (не более 290 ppm), что говорит о соблюдении технологии очистки сухого экстракта.

Результаты исследования гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой плодов представлен в таблице 6. Для определения гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой использовали раствор магния хлорида (относительная влажность 40 %), раствор натрия хлорида (относительная влажность 70 %), воду (относительная влажность 100 %).

Таким образом, увеличение массы в среднем находится в пределах от 2 до 15 %, что говорит о гигроскопичности сухого экстракта расторопши пятнистой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для разработки оригинального комбинированного гепатопротекторного средства, содержащего в составе экстракт расторопши пятнистой, проведена разработка технологии получения данной фитосубстанции, обогащенной силибином.

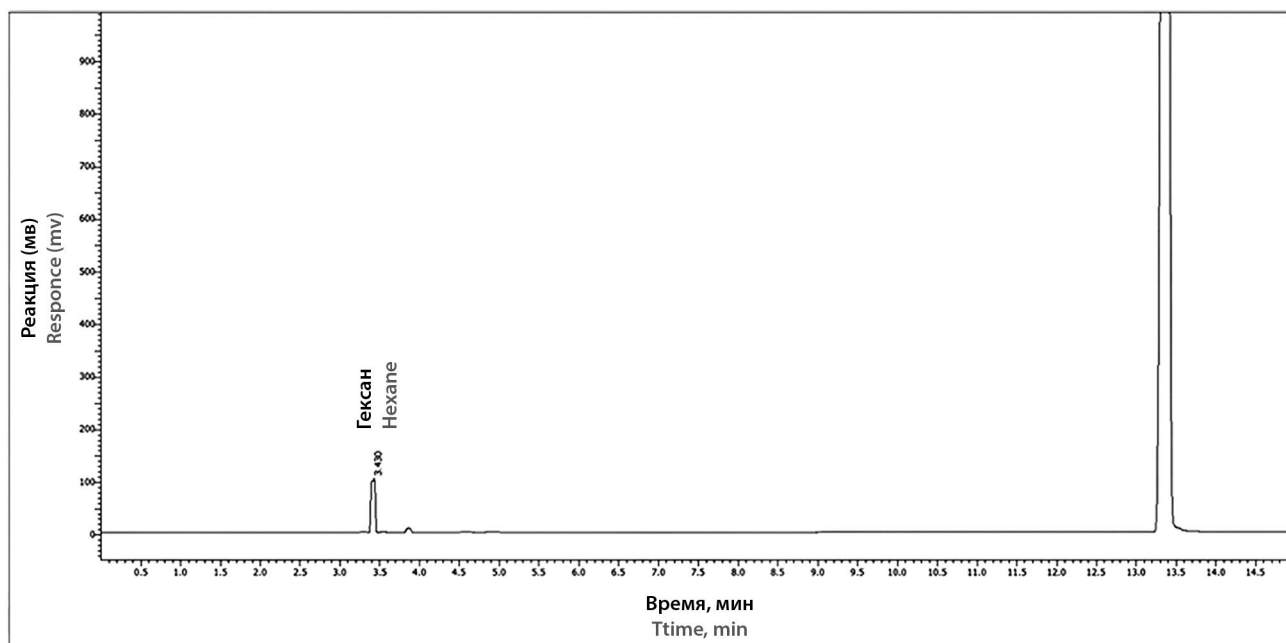


Рисунок 3. Хроматограмма стандартного раствора гексана при изучении содержания ООР

Figure 3. Chromatogram of a standard hexane solution when studying the content of ROS

Таблица 4. Показатели качества сухого экстракта расторопши пятнистой плодов
Table 4. Quality indicators of dry extract *Silybum marianum* L. of fruits

Наименование показателя The name of the indicator	Метод определения Method of determination	Норма Norm	Экспериментальные данные Results
Описание Description	ГФ РФ XIV. Визуальный SP. Visually	Аморфный порошок от серовато-желтого до светло-коричневого цвета без характерного запаха Amorphous powder from grayish-yellow to light brown in color without a characteristic odor.	
Потеря в массе при высушивании, % Weight loss on drying, %	ГФ РФ ОФС. 1.4.1.0021.15 SP GM 1.4.1.0021.15	Не более 5,0 No more 5,0	1,00 ± 0,04
Подлинность Identification	ГФ РФ XIV (ФС.2.5.0035.15) ТСХ SP XIV ed. (GM 2.5.0035.15) TLC	На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаружиться зона адсорбции с интенсивной флуоресценцией фиолетового цвета на уровне зоны адсорбции РСО силимарина The chromatogram of the test solution should show an adsorption zone with intense violet fluorescence at the level of the adsorption zone of RS silymarin	На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются зоны адсорбции с интенсивной флуоресценцией фиолетового цвета на уровне зон адсорбции РСО силимарина The chromatogram of the test solution shows adsorption zones with intense violet fluorescence at the level of adsorption zones of RS silymarin
	ГФ РФ XIV (ФС.2.5.0035.15). Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях SP XIV ed. (GM 2.5.0035.15). Spectrophotometry in the UV and visible regions	УФ-спектр раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны (288 ± 3) нм. The UV spectrum of the solution in the wavelength range from 250 to 330 nm should have a maximum absorption at a wavelength of (288 ± 3) nm.	УФ-спектр раствора в области длин волн от 250 до 330 нм имеет максимум поглощения при длине волны 289 нм. The UV spectrum of the solution in the wavelength range from 250 to 330 nm has an absorption maximum at a wavelength of 289 nm.
	ГФ РФ XIV (ФС.2.5.0035.15) SP XIV ed. (GM 2.5.0035.15)	В растворе должно появляться синевато-красное окрашивание A bluish-red staining should appear in the solution	В растворе наблюдалось синевато-красное окрашивание Bluish-red staining was observed in the solution
Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на силибин, % The content of the sum of flavonoids in terms of silybin, %	ГФ РФ XIV (ФС.2.5.0035.15). Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях SP XIV ed. (GM 2.5.0035.15). Spectrophotometry in the UV and visible regions	Не менее 65 No less 65	71,24 ± 3,85
Остаточные органические растворители, ppm Residual organic solvents, ppm	ГФ РФ XIV (ФС ОФС.1.1.0008.15) SP XIV ed. (GM ОФС.1.1.0008.15)	290	1,3

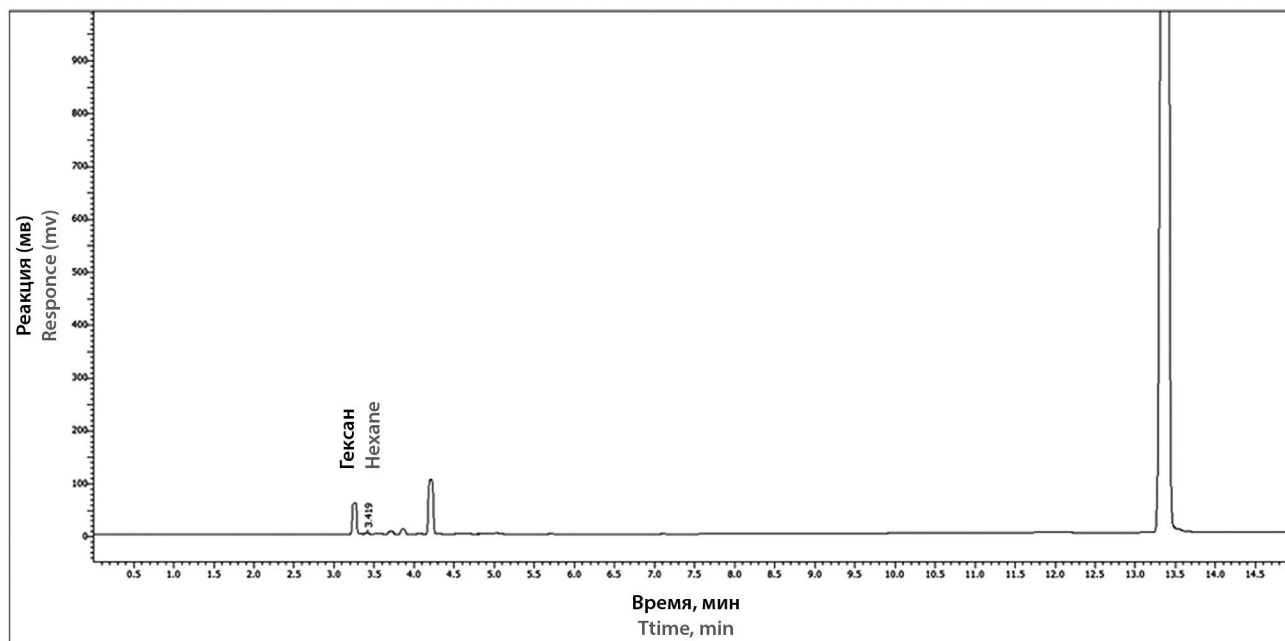


Рисунок 4. Хроматограмма исследуемого образца сухого экстракта расторопши пятнистой при изучении содержания ООР

Figure 4. Chromatogram of the test sample of dry extract of *Silybum marianum* L. fruits when studying the content of ROS

Таблица 5. Технологические свойства
сухого экстракта расторопши пятнистой плодов

Table 5. Technological properties of dry extract
of *Silybum marianum* L. fruits

Наименование показателя The name of the indicator	Метод определения Method of determination	Экспериментальные данные Results
Насыпная плотность, г/мл Bulk weight, g/ml	ГФ РФ ОФС.1.4.2.0016.15 GM 1.4.2.0016.15	50,00 ± 2,97
Степень сыпучести, с Looseness, s	ГФ РФ ОФС.1.4.2.0016.15 GM 1.4.2.0016.15	Сыпучесть отсутствует There is no flowability

Таблица 6. Изучение гигроскопичности
сухого экстракта расторопши пятнистой

Table 6. Study of hygroscopicity
of dry *Silybum marianum* L. extract

Увеличение массы сухого экстракта, % Increase in the mass of the dry extract, %	Относительная влажность среды, % Relative humidity of the medium, %
0,30 ± 0,02	40
1,38 ± 0,07	70
6,49 ± 0,37	100

Рассмотрены различные методы экстрагирования ЛРС, из которых выбран метод, позволяющий получить наибольший выход как по БАВ, так и по су-

хому экстракту, – мацерация с обратным холодильником на кипящей водяной бане. Предложен способ очистки спиртоводного извлечения после стадии экстракции. Разработана технология сухого экстракта расторопши пятнистой плодов. Проведена стандартизация полученного сухого экстракта по показателям качества: описанию, потере в массе при высушивании, подлинности, количественному определению суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, насыпной плотности, степени сыпучести, остаточным органическим растворителям и гигроскопичности.

ЛИТЕРАТУРА

- Wang X., Zhang Z., Wu S.C. Health Benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, Pharmacology, and Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;68(42):11644–11664. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c04791.
- Ковансков В. Е., Ивкин Д. Ю., Семивеличенко Е. Д., Плиско Г. А., Копачёва Е. А., Сидоров К. О. Апробация модели жировой дистрофии печени, индуцированной оротовой кислотой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):240–245. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-240-245.
- Бунят А. В., Спасенкова О. М., Карев В. Е., Караваева А. В., Ивкин Д. Ю., Куликов А. Н., Оковитый С. В., Кириллова Н. В. Модификация модели неалкогольной жировой болезни печени у крыс при сочетании гиперкалорийной диеты и гиподинамии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4–1):155–165. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165.
- Оковитый С. В., Райхельсон К. Л., Приходько В. А. Комбинированная гепатопротекторная фармакотерапия заболеваний печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;203(7):5–20. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-5-20.
- Каухова И. Е., Басевич А. В., Абросимова О. Н., Вайнштейн В. А. Лекарственные средства растительного происхождения. Технология, составы, стандартизация: монография. СПб.: Издательство Кнорус; 2019. 396 с.

6. Křen V., Valentová K. Silybin and its congeners: from traditional medicine to molecular effects. *Natural Product Reports*. 2022;39(6):1264–1281. DOI: 10.1039/d2np00013j.
7. Gillessen A. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Annals of Internal Medicine*. 2020; 37(1):1279–1301. DOI: 10.1007/s12325-020-01251-y.
8. Aghemo A., Alekseeva O. P., Angelico F., Bakulin I. G., Bakulina N. V., Bordin D., Bueverov A. O., Drapkina O. M., Gillessen A., Kagarmanova E. M., Korochanskaya N. V., Kucheryavii U. A., Lazebnik L. B., Livzan M. A., Maev I. V., Martynov A. I., Osipenko M. F., Sas E. I., Starodubova A., Uspensky Y. P., Vinnitskaya E. V., Yakovenko E. P., Yakovlev A. A. Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases: a narrative review. *Annals of Internal Medicine*. 2022;54(1):1548–1560. DOI:10.1080/07853890.2022.2069854.
9. Zhang C. Y., Liu S., Yang M. Antioxidant and anti-inflammatory agents in chronic liver diseases: Molecular mechanisms and therapy. *World Journal of Hepatology*. 2023;15(2):180–200. DOI: 10.4254/wjh.v15.i2.180.
10. Gohari Mahmoudabad A., Gheybi F., Mehrabi M., Masoudi A., Mobasher Z., Vahedi H., Gharravi A. M., Bitaraf F. S., Rezayat Sorkhabadi S. M. Synthesis, characterization and hepatoprotective effect of silymarin phytosome nanoparticles on ethanol-induced hepatotoxicity in rats. *Bioimpacts*. 2023;13(4):301–311. DOI: 10.34172/bi.2023.24128.
11. Torre A. Silymarin in the management of liver enzyme activity in steatohepatitis: a case report. *Drugs in Context*. 2023;12:1–5. DOI: 10.7573/dic.2023-1-5.
12. Islam A., Mishra A., Siddiqui M. A., Siddiquie S. Recapitulation of Evidence of Phytochemical, Pharmacokinetic and Biomedical Application of Silybin. *Drug research (Stuttgart)*. 2021;71(9):489–503. DOI: 10.1055/a-1528-2721.
13. Куркин В. А., Лебедев А. А., Авдеева Е. В., Запесочная Г. Г., Первушкин С. В., Симерзина Л. В., Булатова М. В. Способ получения экстракта расторопши пятнистой. Патент РФ на изобретение № RU 2102999. 27.01.1998. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2102999C1/ru>. Ссылка активна на 03.06.2023.
14. Государственная фармакопея XIV издания. М.: Министерства здравоохранения Российской Федерации; 2018.
15. Saleh I. A., Vinatoru M., Mason T. J., Abdel-Azim N. S., Aboutab E. A., Hammouda F. M. Ultrasonic-Assisted Extraction and Conventional Extraction of Silymarin from Silybum marianum seeds. *Research Journal of Pharmaceutical*. 2015;6(2):709–717.
7. Gillessen A. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Annals of Internal Medicine*. 2020; 37(1):1279–1301. DOI: 10.1007/s12325-020-01251-y.
8. Aghemo A., Alekseeva O. P., Angelico F., Bakulin I. G., Bakulina N. V., Bordin D., Bueverov A. O., Drapkina O. M., Gillessen A., Kagarmanova E. M., Korochanskaya N. V., Kucheryavii U. A., Lazebnik L. B., Livzan M. A., Maev I. V., Martynov A. I., Osipenko M. F., Sas E. I., Starodubova A., Uspensky Y. P., Vinnitskaya E. V., Yakovenko E. P., Yakovlev A. A. Role of silymarin as antioxidant in clinical management of chronic liver diseases: a narrative review. *Annals of Internal Medicine*. 2022;54(1):1548–1560. DOI:10.1080/07853890.2022.2069854.
9. Zhang C. Y., Liu S., Yang M. Antioxidant and anti-inflammatory agents in chronic liver diseases: Molecular mechanisms and therapy. *World Journal of Hepatology*. 2023;15(2):180–200. DOI: 10.4254/wjh.v15.i2.180.
10. Gohari Mahmoudabad A., Gheybi F., Mehrabi M., Masoudi A., Mobasher Z., Vahedi H., Gharravi A. M., Bitaraf F. S., Rezayat Sorkhabadi S. M. Synthesis, characterization and hepatoprotective effect of silymarin phytosome nanoparticles on ethanol-induced hepatotoxicity in rats. *Bioimpacts*. 2023;13(4):301–311. DOI: 10.34172/bi.2023.24128.
11. Torre A. Silymarin in the management of liver enzyme activity in steatohepatitis: a case report. *Drugs in Context*. 2023;12:1–5. DOI: 10.7573/dic.2023-1-5.
12. Islam A., Mishra A., Siddiqui M. A., Siddiquie S. Recapitulation of Evidence of Phytochemical, Pharmacokinetic and Biomedical Application of Silybin. *Drug research (Stuttgart)*. 2021;71(9):489–503. DOI: 10.1055/a-1528-2721.
13. Kurkin V. A., Lebedev A. A., Avdeeva E. V., Zapesochaya G. G., Pervushkin S. V., Simerzina L. V., Bulatova M. V. A method for obtaining Silybum marianum L. extract. Patent RUS № 2102999. 27.01.1998. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2102999C1/ru>. Accessed: 03.06.2023. (In Russ.)
14. State Pharmacopoeia XIV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. (In Russ.)
15. Saleh I. A., Vinatoru M., Mason T. J., Abdel-Azim N. S., Aboutab E. A., Hammouda F. M. Ultrasonic-Assisted Extraction and Conventional Extraction of Silymarin from Silybum marianum seeds. *Research Journal of Pharmaceutical*. 2015;6(2):709–717.

REFERENCES

1. Wang X., Zhang Z., Wu S. C. Health Benefits of Silybum marianum: Phytochemistry, Pharmacology, and Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;68(42):11644–11664. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c04791.
2. Kovanskov V. V., Ivkin D. Yu., Semivelichenko E. D., Plisko G. A., Kopacheva E. A., Sidorov K. O. Approbation of a model of fat liver disease induced by orotic acid. *Drug development & registration*. 2022;11(4):240–245. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-240-245.
3. Bunjat A. V., Spasenkova O. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Ivkin D. Yu., Kulikov A. N., Okovityi S. V., Kirillova N. V. Modification of a model of non-alcoholic fat liver disease in rats with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia. *Drug development & registration*. 2021;10(4–1):155–165. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165.
4. Okovityi S. V., Rajhel'son K. L., Prihod'ko V. A. Combined hepatoprotective pharmacotherapy of liver diseases. *Experimental & clinical gastroenterology*. 2022;203(7):5–20. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-5-20. (In Russ.)
5. Kaukhova I. E., Basevich A. V., Abrosimova O. N., Vainshtain V. A. Herbal medicines. Technology, compositions, standardization: monography. Saint-Petersburg: Knorus publishing; 2019. 396 p. (In Russ.)
6. Křen V., Valentová K. Silybin and its congeners: from traditional medicine to molecular effects. *Natural Product Reports*. 2022;39(6):1264–1281. DOI: 10.1039/d2np00013j.