

# Содержание флаволигнанов расторопши пятнистой в плодах и гепатопротекторных препаратах

Наиболее широким спектром активности в отношении большого круга заболеваний печени, а также многообразием механизмов, лежащих в основе гепатопротекторного действия, отличаются лекарственные препараты на основе веществ флавоноидной природы [1]. Они являются лидерами в терапии заболеваний печени. К ним относят гепатопротекторы, содержащие флавоноиды расторопши пятнистой (Легалон, Силибор, Карсил, Лепротек, Силимарин, Силимар, Силегон).

Расторопша пятнистая (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) – многолетнее растение семейства сложноцветных, родиной которого принято считать Средиземноморье [2]. Это одно- или двулетнее колючее растение высотой до 1,5 м, отличительной особенностью которого является наличие белых пятен на листьях. Для производства лекарственных препаратов используют зрелые плоды расторопши пятнистой, из которых получают экстракт флавоноидных фракций – силимарин [3, 4]. Он представляет собой основное действующее вещество экстракта семян.

Силимарин – смесь изомеров флаволигнанов, в состав которой входят силибин, силикристин и силидианин, а также небольшое количество других стереоизомеров [5].

Терапевтическая эффективность препаратов из плодов расторопши пятнистой базируется на нескольких механизмах действия: силибин стимулирует рибосомальный синтез протеина, что приводит к повышению восстановительной способности печени и образованию гепатоцитов; все флаволигнаны оказывают стабилизирующее действие на мембраны гепатоцитов и предотвращают проникновение гепатотоксинов во внутреннюю часть клетки [6].

Ввиду широкой терапевтической активности силимарина лекарства на его основе находят все более широкое применение. Поэтому в свободной продаже имеется большое количество препаратов, изготовленных из экстракта семян расторопши пятнистой. Из-за несовершенства и трудоемкости метода выделения флаволигнанов из спиртовых экстрактов семян расторопши пятнистой стандартизацию лекарственных препаратов на ее основе проводят по содержанию силибина – его в экстракте насчитывается до 70–80% всех флаволигнанов [7]. Однако оценка качества препаратов на основании одного компонента является недостаточной. Известно, что биологическая активность различных флаволигнанов, входящих в силимарин, отличается [8, 9]. В связи с этим представляется целесообразным анализ состава индикаторных флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой, выращенных в разных регионах Европы, а также в лекарственных субстанциях. Определение количественного соотношения флаволигнанов позволит проводить оценку качества лекарственного сырья, стандартизацию препаратов расторопши пятнистой различных производителей.

Таким образом, целью нашей работы было определение качественного и количественного содержания основных флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой, выращенных в различных географических регионах Европы, а также в лекарственных препаратах, изготавливаемых на основе силимарина.

## Материалы и методы

Объектами исследования служили семена расторопши пятнистой и лекарственные препараты. Сотрудниками Центрального ботанического сада НАН Беларуси были предоставлены семена из ботанических садов Германии (гг. Берлин и Дрезден), Польши, Словении, Швейцарии, Италии, Франции, Бельгии, Румынии и Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Лекарственные препараты были приобретены на территории Республики Беларусь, Российской Федерации и Украины, список которых приведен ниже:

1. Легалон («Мадаус АГ», Германия). Каждая капсула (0,36 г) содержит 140 мг силимарина.

2. Карсил (Sopharma, Болгария). Каждая таблетка (0,45 г) содержит 35 мг силимарина.

3. Силимарол (Herbapol S.A., Польша). В каждом драже (0,35 г) содержится 70 мг силимарина.

## Экстракция силимарина из плодов расторопши пятнистой

Навеску семян расторопши пятнистой измельчали. Из данного сырья силимарин экстрагировали с помощью 80% этилового спирта при температуре 55–60 °С и постоянном помешивании. Экстракты упаривали в вакууме до 20–25% от первоначального объема. После концентрирования и охлаждения экстракты подвергали двукратной обработке бензином. На экстракцию жирных кислот брали растворитель в количестве 20% от объема экстракта. Каждая экстракция бензином проводилась в течение 20 мин, отстаивание – 30 мин. Осаждение силимарина из обезжиренного экстракта проводили 0,05% раствором соляной кислоты. Выпавший осадок – силимарин – отфильтровывали на бумажном фильтре от маточного раствора, после чего промывали водой до нейтрального pH и сушили 8–10 ч до постоянной массы при комнатной температуре. Полученный силимарин подвергали дальнейшему анализу.

## Экстракция силимарина из образцов лекарственных средств

Одну таблетку, предварительно смыв дистиллированной водой верхний цветной слой, драже или капсулу (сухое содержимое) предварительно взвешивали. Драже и таблетки растирали в ступке до однородной массы, капсулы вскрывали и высыпали. Экстракцию производили 80% этиловым спиртом (соотношение сухого вещества (г) к экстрагенту (мл) 1:7,5). От нерастворимых компонентов избавлялись центрифугированием. Надосадочную жидкость собирали и анализировали.

## Обратнофазная ВЭЖХ

Высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) проводили на жидкостном хроматографе с УФ-детектором. Неподвижная фаза: Диасфер С18, Россия, подвижная фаза: метанол/фосфорная

кислота (32:68→80:20→32:68) pH=2,3, скорость подачи 1 мл/мин, детектирование УФ-детектором: длина волны 298 нм.

сырья является ВЭЖХ, которая сочетает в себе разделение веществ и возможность проведения их качественного и количественного определения. Для выявления основных веществ флаволигнановой природы в исследуемых образцах экстрактов семян и лекарственных препаратов была проведена обратнофазная ВЭЖХ. Использование данного подхода позволяет разделить силимарин на отдельные изомерные соединения. В качестве стандарта был использован спиртовой раствор силибина (Sigma). По результатам хроматографии рассчитывали процентное содержание таксифолина, силибина А и В, изосилибина А и В, силикристина и силидианина (рис. 1).

## Результаты и обсуждение

Из рисунка 1 видно, что количественный состав флаволигнанов у исследуемых семян отличается. Сравнительный анализ соотношения силибина, силикристина и силидианина, входящих в силимарин, показал, что по преимущественному содержанию силибина или силидианина все плоды можно разделить на две большие группы. К первой, с преимущественным содержанием силибина, отнесены семена, полученные из ботанических садов Германии (гг. Берлин), Польши и Словении (содержание силибина – от 53 до 56%). Эти плоды также отличались высоким содержанием силикристина (20–24%) на фоне крайне низкого содержания силидианина. Ко второй группе отнесены плоды, в составе которых доминирует силидианин – от 31 до 48,9%. В семенах этих растений содержится достаточно много силибина

кислота (32:68→80:20→32:68) pH=2,3, скорость подачи 1 мл/мин, детектирование УФ-детектором: длина волны 298 нм.

Для того чтобы определить, чем отличается содержание основных компонентов силимарина, исследовали семена расторопши пятнистой, выращенные в различных ботанических садах Европы.

Наиболее надежным и быстрым методом анализа лекарственного растительного

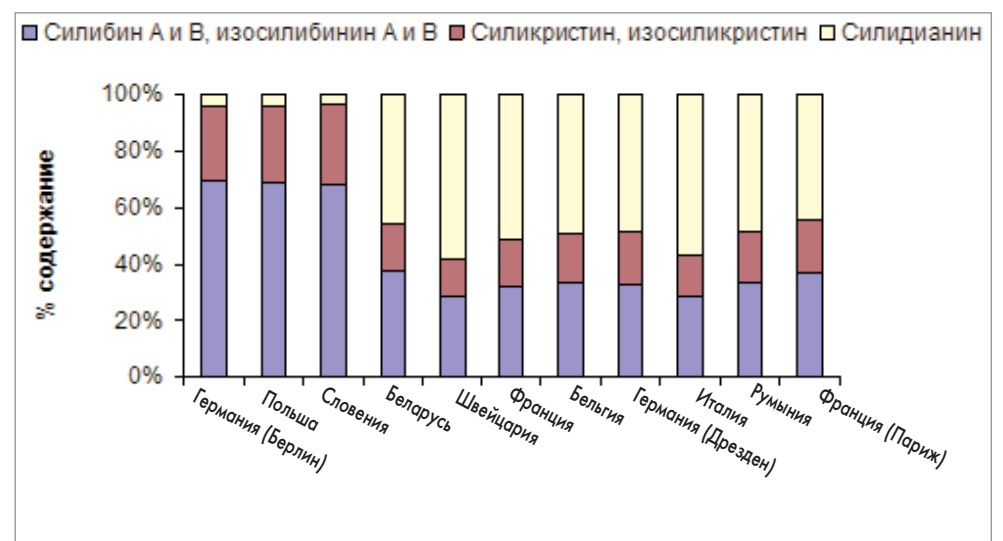


Рис. 1 Содержание флаволигнанов в силимарине, полученном из семян расторопши пятнистой из различных ботанических садов Европы

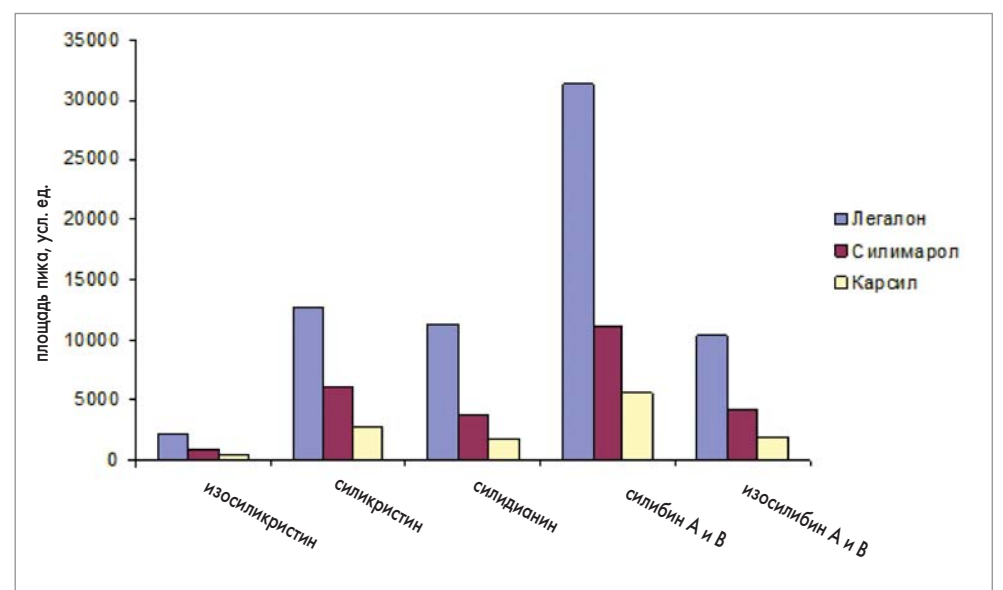


Рис. 2. Данные количественной оценки содержания отдельных флаволигнанов, рассчитанные по ВЭЖХ-профилю силимарина из лекарственных препаратов

Лекарственное средство	Изосилибинин	Силикристин	Силидианин	Силибинин А и В
1. Легалон	2187	12692	11334	31337
2. Силимарол	1279	6112	3778	11157
3. Карсил	572	2771	1669	5543

(22-26,9%), а содержание силикристина оказалось сниженным по сравнению с первой группой (11,7-13,1%).

Следует отметить, что исследования состава флаволигнанов проводили индивидуально в каждой морфологической группе плодов, различающихся по цвету семенной оболочки, и корреляции между окраской семенной оболочки и составом флаволигнанов выявлено не было. Обнаруженные различия в количественном соотношении по отдельности силибина, силикристина и силидианина в составе флаволигнанов позволяют сделать вывод о том, что существует несколько хеморас этого растения. На данный момент обнаружено две основные хеморасы расторопши пятнистой: силибиновая и силидианиновая, различающиеся по преимущественному содержанию соответствующих флаволигнанов.

Расторопша пятнистая выращивается в различных европейских странах. Плоды используют в качестве лекарственного сырья при производстве гепатопротекторных препаратов. Биологическая активность данных лекарственных средств зависит от содержания в них флаволигнанов, основными из которых являются силибин, силикристин и силидианин. На основании обнаруженных хеморас расторопши пятнистой можно утверждать, что препараты, изготовленные из нестандартизированного сырья, будут отличаться по биоэквивалентности, что может повлечь за собой различия и в терапевтическом эффекте [8, 9]. Поэтому крайне важно при выборе сырья для производства лекарственных средств учитывать не только общее содержание биологически активных веществ, но и определить в нем количественное соотношение отдельных флаволигнанов.

В результате проведенных исследований лекарственных препаратов Легалон, Силимарол и Карсил, изготавливаемых на основе плодов расторопши пятнистой, были также обнаружены различия в компонентном составе флаволигнанов. Данные количественной оценки содержания отдельных флаволигнанов, рассчитанные по ВЭЖХ-профилю силимарина из лекарственных препаратов, приведены на рисунке 2. Оценку проводили по величинам площадей пиков, соответствующих индивидуальным флаволигнанам.

Анализ полученных данных показал, что соотношение индивидуальных стереоизомеров в лекарственных препаратах Легалон, Силимарол и Карсил имеет незначительные колебания. Например, Легалон отличался более высоким содержанием силибина и силикристина. Если явных отличий по флаволигнановому составу в исследованных препаратах выявлено не было, то по общему содержанию силимарина, в частности силибина, силикристина и силидианина, Легалон занимает первое место. В этом препарате содержание всех изомеров флаволигнанов было примерно в 2 раза выше, чем в Силимароле, и в 5 раз выше, чем в Карсиле.

### Выводы

Обнаруженные отличия в компонентном составе биологически активных веществ флавоноидной природы плодов расторопши пятнистой, выращенных в разных географических регионах Европы, позволило выявить две хеморасы этого лекарственного растения — силибиновую и силидианиновую. Выделение хеморас основано на способности накапливать в большом количестве один из флаволигнанов — силибин или силидианин соответственно.

Было показано, что эффективность и безопасность силимарина в значительной

степени зависит от соотношения флаволигнанов, входящих в препараты, и дозы силибина. Отличия в составе приводят к различной биоэквивалентности и фармакокинетике, которые определяют клинические эффекты при лечении гепатопатий различной этиологии.

Крайне важно при выборе сырья для производства лекарств учитывать не только общее содержание биологически активных веществ, но и количественное соотношение отдельных флаволигнанов.

Анализ оптических плотностей на ВЭЖХ-профилях исследованных препаратов показал, что по общему содержанию биологически активных веществ (флаволигнанов) первое место занимает Легалон, за ним следует Силимарол, а затем

### Задача

Феєричні вечірки взимку були насичені приємними знайомствами та шотландським віскі. Але печінка Богдана не поділяла з ним святкової радості. І, як на зло, з часом почала псувати йому задоволення.

## Арифметика здоров'я від Мадаус

Відпускається без рецепта

Вечірки з шотландським віскі & уражена печінка

Легалон  
Ефективне лікування печінки

Задоволення від життя + широкі перспективи влітку 2011

Необхідно проконсультуватись з лікарем перед застосуванням.  
Перед застосуванням обов'язково ознайомитись з інструкцією.

Регістраційне свідоцтво Легалон 70 - UA 7185/01/02 від 18.10.2007(дійсне до 18.10.2012), Легалон 140 - UA 7185/01/01 від 18.10.2007(дійсне до 18.10.2012).  
Повну інформацію про препарат можна прочитати в інструкції щодо застосування.



м. Київ, вул. Магнітогорська, 1, офіс 305

тел/факс: +38 (044) 239-14-73

www.rottapharm-madaus.ru



Карсил. Силимарол содержит флавонолигнанов приблизительно в 2 раза меньше, чем Легалон, а Карсил — в 5 раз меньше, чем Легалон.

Легалон по сравнению с другими препаратами отличается более высоким содержанием силикристина и силибина.

### Литература

1. Крепкова Л.В. Экспериментальное и клиническое изучение фитопрепаратов из расторопши пятнистой / Л.В. Крепкова, А.А. Шкаренков, Т.А. Сокольская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2008. — № 4. — С. 3-6.
2. Kroll D.J. Milk Thistle Nomenclature: Why It Matters in Cancer Research and Pharmacokinetic Studies / David J. Kroll, Heather S. Shaw and Nicholas H. Oberlies // Integr Cancer Ther. — 2007. — № 6. — P. 110.
3. Corchete P. Silybum marianum (L.) Gaertn: the source of silymarin / P. Corchete // Bioactive molecules and medicinal plants / K.G. Ramawat, J.M. Merillon. — Springer Berlin Heidelberg, 2008. — P. 123-148.

4. Эллер, К.И. Оценка подлинности растительных экстрактов как сырья для БАД. Silybum marianum (L.) Gaertn — Расторопша пятнистая / К.И. Эллер, А.С. Балусова, Е.Л. Комарова // Рынок БАД. — 2006. — Вып. 28, № 2, с. 33-34.
5. Винницкая Е.В. Гепатопротекторы: рациональное применение при алкогольной болезни печени / Е.В. Винницкая // Фарматека. — 2008. — № 2, с. 41-45.
6. Сокольская Т.А. Создание лекарственных средств из плодов расторопши пятнистой (получение, стандартизация и контроль качества): дис. на соискание уч. степ. доктора фарм. наук: 15.00.02 / Т.А. Сокольская; Моск. мед. академ. им. И.М. Сеченова. — Москва, 2000. — 79 л.
7. Pepping, J. Milk thistle: Silybum marianum / J. Pepping // Am J Health-Syst Pharm. — 1999. — Vol. 56. — P. 1195-1197.
8. Батаков Е.А. Дифференцированное влияние силибохола и легалона на антиоксидантные системы печени при отравлении четыреххлористым углеродом / Е.А. Батаков // Казанский медицинский журнал. — 2001. — Т. 82, № 2, с. 105-106.
9. Антиоксидантные свойства комплексного гепатопротекторного лекарственного препарата силибохол / А.А. Лебедев и др. // Раст. ресурсы. — 2001. — Вып. 2, с. 69-75.