

ПЛОДЫ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ: ИЗУЧЕНИЕ И МОДЕЛИРОВАНИЕ РАВНОВЕСНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ МЕЖДУ ФАЗАМИ

Н.Н. Бойко*, кандидат фармацевтических наук,
Е.Т. Жиликова, доктор фармацевтических наук, профессор,
О.О. Новиков, доктор фармацевтических наук, профессор
Белгородский государственный университет, Научно-образовательный центр «Фармация»;
Российская Федерация, 308015, Белгород, ул. Победы, д. 85

Введение. В научной литературе основное внимание уделяется вопросам разработки технологии получения экстракта расторопши и подбору экстрагента для максимальной экстракции флаволигнанов из плодов расторопши. Однако нет информации о экспериментальном и теоретическом изучении зависимости распределения экстрактивных веществ и/или биологически активных веществ между фазами для плодов расторопши пятнистой и экстрагентом.

Цель работы – экспериментальное изучение и математическое моделирование равновесного процесса распределения экстрактивных веществ между фазами для плодов расторопши пятнистой и водным раствором этилового спирта.

Материал и методы. Использованы измельченные плоды расторопши 6 производителей России и Украины с фракцией частиц 0,1–0,5 мм, экстрагент – этиловый спирт 70% об, соотношение растительное сырье – экстрагент 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, температура 4±1, 18±1, 35±1, 40±1°C, время настаивания – 24 ч. Описание концентрации экстрактивных веществ в экстракционной системе растительное сырье – экстрагент выполнено с помощью математической модели на основе сорбционных законов.

Результаты. Показано, что масличность сырья значительно влияет на насыпную и удельную плотность сырья. Относительные ошибки для средних значений констант, найденных, согласно сорбционным представлениям, колеблются в диапазоне 6–30%. Предложена математическая модель, связывающая основные параметры растительного сырья и технологии, а также 3 теоретические константы, характеризующие экстракционную систему.

Заключение. Найденные основные технологические и фармакогностические параметры плодов расторопши пятнистой. На примере плодов расторопши пятнистой в соответствии с сорбционной концепцией предложена и апробирована математическая модель для описания процесса равновесного распределения экстрактивных веществ между целлюлозным скелетом растительного сырья и экстрагентом. Показана значимость предложенной математической модели и ее констант с вероятностью 95%.

Ключевые слова: расторопша пятнистая, *Silybum marianum* L., плоды, экстрактивные вещества, равновесие, моделирование.

Для цитирования: Бойко Н.Н., Жиликова Е.Т., Новиков О.О. Плоды расторопши пятнистой: изучение и моделирование равновесного распределения экстрактивных веществ между фазами. Фармация. 2018; 67 (1): 24–28. DOI: 10.29296/25419218-2018-01-05

*E-mail: boykoniknik@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Экстракционные препараты из расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.) занимают важное место среди препаратов для лечения хронических заболеваний печени [1–4]. Основной группой гепатотропных веществ в плодах расторопши пятнистой являются флаволигнаны (силибинин, изосилибинин, силихристин, силидианин), в сырье содержатся и другие фенольные соединения (дигидрохверцетин, апигенин, кемпферол, кверцетин, гидроксикоричные кислоты и др.), а так-

же до 30% жирного масла, ситостерол, витамины, белки, микроэлементы [5]. В научной литературе основное внимание уделяется вопросам разработки технологии получения экстракта и подбору экстрагента для максимальной экстракции флаволигнанов из плодов расторопши. Подробно обобщены данные о применяемых экстрагентах, соотношении сырье – экстракт, фармакологических исследованиях, а также о препаратах из плодов расторопши пятнистой, выпускаемых в Европейском Союзе [6–8]. Однако в литературе нет данных о экспериментальном изучении, а также теоретического описания зависимости распределения

экстрактивных веществ и/или биологически активных веществ между фазами для плодов расторопши пятнистой и экстрагентом.

Как известно, зависимость распределения изучаемых групп биологически активных веществ между целлюлозным скелетом лекарственного растительного сырья (ЛРС) и экстрагентом описывается с помощью законов сорбции/десорбции веществ в экстракционной системе [9]. Следовательно, сорбционные процессы биологически активных веществ в экстракционной системе (целлюлозный скелет ЛРС / экстрагент) определяют их равновесную концентрацию в экстракте. Поэтому взаимосвязь таких параметров, как исходное содержание веществ в ЛРС и их содержание в экстракте при наступлении равновесия в экстракционной системе нужно искать исходя из сорбционных законов.

Цель работы – экспериментальное изучение и математическое моделирование равновесного процесса распределения экстрактивных веществ между фазами для плодов расторопши пятнистой и водным раствором этилового спирта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал для экспериментов – растительное сырье, приобретенное в аптеках России и Украины (табл. 1). Для экстракции использовали измельченное сырье с размером частиц 0,1–0,5 мм. Экстрагентом служил 70±1% v/v этиловый спирт. Процесс экстракции проводили при температуре 4±1, 18±1, 35±1, 40±1°C, применяя простую мацерацию в течение 24 ч настаивания. Распределение экстрактивных веществ между фазами изучали при соотношении масса сырья – объем экстрагента 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:60. Точно взвешен-

ную навеску лекарственного растительного сырья (ЛРС) и экстрагента помещали в герметичную емкость и ставили в термостат или холодильник на 24 ч, а после настаивания повторно взвешивали для учета экстрагента, который улетучился.

В растительном сырье определяли содержание экстрактивных веществ, растворимых в этиловом спирте и n-гексане, а также его влажность, плотность экстрактов, наличие этилового спирта, сухого остатка в экстрактах, согласно фармакопейным методикам [10].

При допущении, что объем экстракта равен объему экстрагента, а количество вещества, остающегося на скелете ЛРС, подчиняется закону сорбции (в частности уравнению Фрейндлиха), распределение веществ в экстракционной системе можно описать следующей теоретической зависимостью (1):

$$C \cdot S \cdot \frac{\rho_E}{\rho_S} + k_0 \cdot C^{k_1} - X_0 = 0 \quad (1),$$

где X_0 – содержание экстрактивных веществ в ЛРС в пересчете на скелет, г/г скелета ЛРС; C – равновесная концентрация веществ в экстракте, г/г экстракта; S – количество экстрагента, приходящегося на единицу массы скелета ЛРС, г/г (экстрагент / скелет ЛРС); k_0 , k_1 – эмпирические константы; ρ_E , ρ_S – плотность экстракта и экстрагента соответственно, г/см³.

Составная константа k_0 связана с параметрами ЛРС следующим образом: $k_0 = k'_0 / (1 - X_{01} - X_M - w)$, а константа k_1 зависит от температуры и хорошо описывается следующим уравнением:

$$k_1 = k_2 \cdot \exp\left(\frac{-E}{R \cdot T}\right),$$

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наименование	Производитель ЛРС	Дата и серия	Срок годности, мес
Шрот расторопши	ООО «Натуральные масла», Солнечногорск, Россия	221216	24
Расторопши пятнистой плоды измельченные	Фирма «Биокор», Пенза, Россия	190115	24
Расторопша, диетическая добавка (расторопши пятнистой плоды измельченные)	ЧАО «Лектравы», Житомир, Украина	28.03.17, № 002	24
Плоды расторопши пятнистой (добавка диетическая)	ЧП «ДОН», Днепр, Украина	03.2017	24
Расторопши плоды измельченные SE	ПТФ «Фармаком», Харьков, Украина	01.03.17	24
Шрот расторопши	ООО «Иван-да-Марья», Кузнецк, Россия	19.11.12, №11/12	12

где k_2 , E – эмпирические константы; R – газовая постоянная, 8.314, Дж·(моль·К)⁻¹; T – температура, К.

Эмпирические константы рассчитывали с помощью регрессионного анализа с применением надстройки «Анализ данных» в программе MS Excel 2003. Так, например, константы k_1 , k_0 определяли по уравнению (2), в виде угла наклона и свободного члена:

$$\ln\left(X_0 - C \cdot S \cdot \frac{p_E}{p_S}\right) = k_1 \cdot \ln C + \ln k_0 \quad (2).$$

Расчет констант E , k_2 проводили также в виде угла наклона и свободного члена по уравнению (3):

$$\ln k_1 = \frac{E}{R} \cdot \frac{1}{T} + \ln k_2 \quad (3).$$

При этом, согласно теории, знак перед E/R должен быть отрицательным.

Статистическую оценку гипотезы о линейности уравнений (2) и (3) выполняли с помощью критерия Фишера (F-теста) и уровня значимости для него (p), путем сопоставления вычисленного значения F-критерия ($F_{расч}$) и уровня значимости p ($p_{расч}$) с теоретическим показателем [$F_{теор} = f(0,05, m=2, k=n-m-1=6-2-1=3)$] и $p_{теор} = 0,05$). Если выполняются неравенства $F_{расч} \geq F_{теор}$ и $p_{расч} \leq p_{теор}$, то с уверенностью на 95% можно утверждать, что рассматриваемая линейная зависимость является статистически значимой. Значимость экспериментально найденных констант проверяли с помощью t-критерия и уровня значимости (p) для него. Анализируемая константа считается значимой, если выполняются неравенства: $t_{расч} \geq t_{теор}$

($t_{теор} = f(0,05, k=n-2=6-2)$ и $p_{теор} = 0,05$) и $p_{расч} \leq p_{теор}$. При этом необходимые статистические показатели автоматически рассчитываются; и эти данные предоставляются наряду с другими при выводе итогов регрессионного анализа с помощью надстройки «Анализ данных» программы MS Excel 2003.

После вычисления констант расчет теоретического значения равновесной концентрации веществ в экстракте проводили по формуле (1) с применением надстройки «Поиск решения» в программе MS Excel 2003, поскольку данное уравнение относится к виду не разделяющихся переменных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные технологические и фармакогнозические параметры плодов расторопши пятилетней от разных производителей, необходимые для технологических расчетов процесса экстракции, представлены в табл. 2. Согласно полученным данным, масличность сырья (X_M) значительно влияет на насыпную плотность (ρ_H) и удельную плотность (ρ_y) сырья, что позволяет сделать предварительную оценку качества ЛРС, поскольку ЛРС, обедненное маслом, имеет большую насыпную и удельную плотность в отличие от сырья с большим содержанием масла. Такие показатели ЛРС, как сумма экстрактивных веществ, растворимых в 70% этиловом спирте v/v ($X_{01} = 0,171 \pm 0,013$ г/г ЛРС), и влагосодержание ($w = 0,058 \pm 0,012$ г/г ЛРС) относительно стабильны и не зависят от масличности ЛРС, причем это наблюдается для сырья от разных производителей.

Таблица 2

НЕКОТОРЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЛРС*

Производитель ЛРС	$w \pm \Delta$, г/г ЛРС	$X_{01} \pm \Delta$, г/г ЛРС	$X_M \pm \Delta$, г/г ЛРС	$\rho_H \pm \Delta$, г/см ³	$\rho_y \pm \Delta$, г/см ³
Днепр (шрот)	0,074±0,003	0,153±0,006	0,083±0,003	0,65±0,03	1,40±0,07
Кузнецк (шрот)	0,047±0,002	0,174±0,007	0,079±0,003	0,65±0,03	1,41±0,07
Солнечногорск (шрот)	0,052±0,002	0,164±0,006	0,111±0,004	0,62±0,03	1,42±0,07
Житомир	0,062±0,003	0,180±0,007	0,311±0,012	0,45±0,02	1,25±0,06
Харьков	0,065±0,003	0,168±0,007	0,276±0,011	0,44±0,02	1,27±0,06
Пенза	0,047±0,002	0,188±0,008	0,304±0,012	0,46±0,02	1,27±0,06
Среднее значение и ошибка среднего**	0,058±0,012	0,171±0,013	0,091±0,042; 0,30±0,05	0,64±0,04; 0,45±0,03	1,41±0,03; 1,26±0,03
Стандартное отклонение	0,011	0,012	0,019; 0,017	0,01; 0,02	0,01; 0,01

Примечания. * – значения приведены при количестве повторов $n=3$ и доверительной вероятности $p=0,95$; ** – 1-е число относится к шроту, 2-е – к ЛРС.

Результаты расчета значений констант, их ошибок и коэффициента детерминации (r^2) для регрессионного уравнения (3) приводятся в табл. 3. Установлено, что относительные ошибки для средних значений констант, найденных, согласно сорбционным представлениям, колеблются в диапазоне 6–30%. Это достаточно хорошие результаты для небольшой выборки из 6 образцов и экстрактивных веществ, которые представляют собой сумму различных биологически активных соединений с неизвестным механизмом взаимодействия, в том числе и с целлюлозным скелетом ЛРС. Кроме того, коэффициент детерминации со средним значением $0,989 \pm 0,008$ указывает на то, что зависимая переменная на 98,9% включает описание учтенных факторов, а остальные 1,1% погрешности вносят неучтенные факторы и случайные ошибки в опыте. При этом во всех изученных случаях гипотеза о линейности уравнения подтверждалась с помощью критерия Фишера (F-теста) и уровня значимости для него (p), т.е. выполнялись неравенства $F_{расч} \geq F_{теор}$ и $p_{расч} < p_{теор}$, а значимость экспериментально найденных констант также подтверждалась с помощью t-критерия и уровня значимости для него (p), т.е. выполнялись неравенства $t_{расч} \geq t_{теор}$ и $p_{расч} < p_{теор}$.

Таким образом, на основе сорбционной концепции были связаны в математической модели следующие важные параметры ЛРС: исходное содержание экстрактивных веществ в сырье, влажность, масличность (содержание липофильных веществ), массовое соотношение экстрагент – скелет ЛРС, плотность экстракта и экстрагента, температура, а также 3 экспериментально найден-

ные теоретические константы, характеризующие экстракционную систему.

Данная модель является базовой и в дальнейшем с учетом дополнительных технологических параметров и закономерностей позволит прогнозировать концентрацию веществ в экстрактах в равновесных и не равновесных условиях экстракции для дробной мацерации, перколяции, реперколяции, фильтрационной экстракции и т.д.

Результаты получены в рамках выполнения государственного задания № 12.6429.2017/БЧ «Комплексные исследования объектов растительного происхождения в процессе создания ряда целевых лекарственных форм для проктологии».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Найдены основные технологические и фармакогностические параметры плодов расторопши пятнистой для 6 разных производителей: содержание экстрактивных веществ, растворимых в 70% v/v этиловом спирте; масличность; влажность; насыпная и удельная плотность. Отмечено, что масличность значительно влияет на показатели насыпной и удельной плотности ЛРС.

На примере плодов расторопши пятнистой предложена и апробирована математическая модель описания процесса равновесного распределения экстрактивных веществ между скелетом растительного сырья и экстрагентом (70% v/v этиловый спирт) с точки зрения сорбции экстрактивных веществ на ЛРС. С помощью статистических методов показана значимость предложенной математической модели и ее констант с вероятностью 95%.

Таблица 3

ЗНАЧЕНИЯ КОНСТАНТ И ИХ ОШИБКИ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИОННОЙ СИСТЕМЫ, ЭКСТРАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА – ПЛОДЫ РАСТОРПШЫ ПЯТНИСТОЙ / ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ 70% v/v

Производитель ЛРС	$X_0 \pm \Delta$	$k_0' \pm \Delta$	$k_2 \pm \Delta$	$E \pm \Delta$	r^2
Днепр (шрот)	$0,222 \pm 0,006$	$0,12 \pm 0,03$	82 ± 45	14700 ± 5900	0,983
Кузнецк (шрот)	$0,248 \pm 0,007$	$0,18 \pm 0,01$	81 ± 36	13500 ± 4800	0,996
Солнечногорск (шрот)	$0,243 \pm 0,009$	$0,19 \pm 0,02$	55 ± 31	12500 ± 5500	0,987
Житомир	$0,385 \pm 0,014$	$0,23 \pm 0,13$	65 ± 61	12700 ± 9500	0,993
Харьков	$0,343 \pm 0,012$	$0,20 \pm 0,07$	59 ± 49	12900 ± 8200	0,980
Пенза	$0,409 \pm 0,015$	$0,23 \pm 0,04$	36 ± 13	12000 ± 3100	0,997
Среднее значение и ошибка среднего	$0,238 \pm 0,035^*$ $0,379 \pm 0,082$	$0,19 \pm 0,04$	63 ± 18	13000 ± 1000	$0,989 \pm 0,008$
Стандартное отклонение	$0,014^*$; $0,033$	0,04	17	950	0,007

Примечания. *1-е число относится к шроту, 2-е – к ЛРС.

Для 3 теоретических констант рассчитаны средние значения и ошибки. Показаны перспективы применения данной математической модели для прогнозирования показателей качества получаемых экстрактов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств. Химико-фармацевтический журнал. 2003; 37(4): 27-41. [Kurkin V.A. Milk Thistle is a source of medicines. Khimiko-farmaceuticheskiy zhurnal, 2003; 37(4): 27–41 (in Russian)].
2. Saller R., Meier R., Brignoli R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 2001; 61(14): 2035–63.
3. Pradhan S.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res.*, 2006; 124(5): 491–504.
4. Abenavoli L., Capasso R., Milic N., Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytother. Res.*, 2010; 24(10): 1423–32.
5. World Health Organization (WHO) monographs on selected medicinal plants. Vol. 2. *Fructus Silybi Mariae*. Geneva: World Health Organization, 2002; 358.
6. Khalilian A., Saffary N., Rahmani N., Eskandary S. Optimization of extraction of *Silybum marianum* fruits, presentation of three formulations of its active chemicals and designing a dissolution test method for silymarin tablet. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2004; 3 (2), 47–57.
7. Caihong T., Xianrong X., Yaqi S., Xianli F., Guohua X., Huan Y. A novel approach for the efficient extraction of silybin from milk thistle fruits. *Pharmacogn. Mag.*, 2014; 10 (40): 536–40.
8. Palomino O. Assessment report on *Silybum marianum* (L.) Gaertn., fructus. London: Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), European Medicines Agency; 2016 Sept. 79 p. Report No.:EMA/HMPC/294188/2013.
9. Изучение зависимости концентрации биологически активных веществ в получаемых вытяжках от соотношения экстрагент – растительное сырье. Под ред. Е.А. Омельченко, Е.А. Амосова. Материалы III Международной научно-практической конференции «Актуальные исследования гуманитарных, естественных, технических и общественных наук». 24 ноября 2013г.. Россия. Новосибирск, «ЦСРНИ», 2013; 168. [Study of the dependence of the concentration of biologically active substances in exhaust applications received from extractant/vegetable raw materials. (scientific editors E.A. Omelchenko, E.A. Amosov). Materials of III international scientific-practical Conference «Topical study Humanities, natural sciences and social sciences», November 25, 2013; Russia. Novosibirsk: «CSRNI», 2013; 168 (in Russian)].
10. Государственная фармакопея РФ XIII изд. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml> [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII-ed. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/feml> (in Russian)]

Поступила 19 августа 2017 г.

MILK THISTLE (*SILYBUM MARIANUM*) FRUITS: INVESTIGATION AND MODELING OF THE PHASE EQUILIBRIUM DISTRIBUTION OF EXTRACTIVES

N.N. Boyko, PhD; Professor E.T. Zhilyakova, PhD; Professor O.O. Novikov, PhD

Pharmacy Research and Education Center, Belgorod State University, Belgorod, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. The scientific literature focuses on the development of milk thistle (*Silybum marianum*) extraction technology and on the choice of an extractant for the highest extraction of flavonolignans from the fruits of this plant. However, there is no information obtained from experimental and theoretical studies of a relationship of the phase distribution of extractives and/or biologically active substances for the milk thistle fruits and the extractant.

Objective: to conduct an experimental study and to do mathematical modeling of the phase equilibrium distribution of extractives for milk thistle fruits and aqueous ethanol solution.

Material and methods. The investigators used crushed milk thistle fruits from 6 Russian and Ukrainian manufacturers, the particle sizes of which was 0.1–0.5 mm; extractant, 70% (v/v) ethanol; plant raw material/extractant ratio, 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, and 1:60; temperatures, 4±1, 18±1, 35±1, and 40±1°C; steeping time, 24 hours. The concentration of extractives in the plant raw material-extractant system was described using a mathematical model based on the sorption laws.

Results. The oil content of the raw material was shown to greatly affect its bulk and specific density. According to the sorption concepts, the relative errors for the mean values of the constants found ranged 6–30%. A mathematical model linking the basic parameters of plant raw material and technologies, as well as 3 theoretical constants characterizing the extraction system were proposed.

Conclusion. The basic technological and pharmacognostic parameters of milk thistle fruits were found. Using an example of milk thistle fruits in accordance with the sorption concept, the authors proposed and tested the mathematical model to describe the equilibrium distribution of extractives between the cellulose skeleton of the plant raw material and the extractant. The importance of the proposed mathematical model and its constants with 95% probability was shown.

Key words: milk thistle, *Silybum marianum* L., fruits, extractives, equilibrium, modeling.

For citation: Boyko N.N., E.T. Zhilyakova E.T., Novikov O.O. Milk thistle (*silybum marianum*) fruits: investigation and modeling of the phase equilibrium distribution of extractives. *Farmatsiya (Pharmacy)*. 2018; 67 (1): 24–28 (in Russian). DOI: 10.29296/25419218-2018-01-05