

УДК 615.322'453.3.014.21.015.21:616.36

ВЫБОР РАЦИОНАЛЬНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

¹Науменко А.Г., ¹Шевченко А.М.

¹Пятигорский медико- фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Пятигорск, Пятигорск, Россия (357500, г. Пятигорск, пр. Кирова, 33) E-mail: nplfarmak-50@yandex.ru

Изучена динамика извлечения флаволигнанов из семян расторопши 80% этиловым спиртом. Оценка полученных результатов позволила установить, что изменение величины прироста концентрации наиболее активно происходит в диапазоне числа ступеней от 1 до 4 при соотношении сырья и экстрагента 1:2. Извлечение получено методом реперколяции с завершённым циклом. Установлены показатели качества жидкого экстракта расторопши 1:2. Исследована возможность использования различных наполнителей для стабилизации сухого экстракта расторопши пятнистой. Количество экстракта, способного сорбироваться на носителе, устанавливалось путем изучения пластической прочности увлажненных масс. Установлено, что наиболее приемлемым наполнителем для сухого экстракта расторопши является полипласдон XL-10, поглощающий до 240% жидкой фазы. Установлено также, что сорбция флавоноидного комплекса экстракта расторопши на полипласдоне обратима.

Ключевые слова: расторопша пятнистая экстракт сухой, флаволигнаны, стабилизация, полипласдон XL-10

CHOICE OF RATIONAL TECHNOLOGY OF RECEIVING DRY EXTRACT OF FRUITS OF THE THISTLE SPOTTY

¹Naumenko A.G., ¹Shevchenko A.M.

¹Pyatigorsk State Medical and Pharmaceutical Institute , a subsidiary of SEI HPE " Volgograd State Medical University", Pyatigorsk, Russia (357500 , Pyatigorsk, Kirova , 33) E -mail: nplfarmak-50@yandex.ru

Dynamics of extraction of flavolignan from seeds of a thistle of 80% is studied by ethyl alcohol, the Assessment of the received results allowed to establish that change of size of a gain of concentration most actively happens in the range of number of steps from 1 to 4 at a ratio of raw materials and an ekstragent 1:2. Extraction is received by a reperkolyation method with a complete cycle. Indicators of quality of liquid extract of a thistle 1:2 are established. Possibility of use of various fillers for stabilization of dry extract of a thistle spotty is investigated. The amount of the extract capable to be occluded on the carrier was established by studying of plastic durability of the humidified masses. It is established that the most acceptable filler for dry extract of a thistle is polypladone XL-10 absorbing to 240% of a liquid phase. It is established also that sorption of a flavonoidny complex of extract of a thistle on the polypladone is reversible.

Keywords: thistle spotty extract dry, flavolignana, stabilization, polypladone XL-10

Расторопша пятнистая – двулетнее растение из семейства астровых, которая содержит богатый комплекс из 40 ценнейших лечебных и питательных веществ. Среди них большой комплекс флавонолигнанов и флавоноидов (флавоноидная субстанция, названная силимарин, включающая силибин, силидианин и силикристин, а также кверцитин, таксифолин, филлохинон), биогенные амины (гистамин, тирамин), жирное (до 32% с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот) и эфирное (до 0,08%) масла, слизистые вещества [3]. Кроме того, семена расторопши содержат макроэлементы, мг/г: К 9,2; Са 16,6; Mg 4,2; Fe 0,085; микроэлементы, мг/г: Mn 0,1; Cu 1,16; Zn 0,77; Cr 0,15; Al 0,02; V 0,91; Se 22,9; Ni 0,2; Sr 0,08; Pb 0,08; J 0,99; В 22,4; концентрирует Cu, особенно Se.

Однако существующая технология, предусматривающая выделение и очистку суммы флаволигнанов, не позволяет извлечь полный комплекс ценнейших БАВ семян этого

растения, т.к. они обладают различными физико-химическими свойствами, а это снижает гепатопротекторную активность препарата [4]. Доказательством тому служит выявленная высокая гепатопротекторная активность «Расторопши экстракта жидкого», содержащего весь природный комплекс соединений флаволигнановой природы, превосходящая таковую у очищенной суммы флаволигнанов (силибинин). В отличие от сухого экстракта он обладает более высокой гепатопротекторной активностью, т.к. содержит весь природный комплекс соединений флаволигнановой природы, превосходящей таковую у очищенной суммы флаволигнанов (силибинин). Данное обстоятельство, по всей видимости, можно связать с сонаправленным (синергетическим) действием компонентов всего нативного комплекса соединений фенольной природы (флаволигнаны + флавоноиды), в частности дигидрокверцетина, обладающего антиоксидантными свойствами [2]. Кроме того, в суммарном комплексе обнаружен новый флаволигнан – 2,3-дегидросилибин. Выделение данного соединения имеет важное практическое значение, поскольку при сравнительном исследовании антиоксидантных свойств индивидуальных соединений – производных фенилпропаноидов на модели острого токсического гепатита, вызванного тетрахлорметаном, было подтверждено не только наличие гепатопротекторной активности, характерной для всех флаволигнанов, но и установлена наибольшая антиокислительная активность у 2,3-дегидросилибина (превосходит силибин по влиянию на уровень накопления МДА на 14%) [7]. Кроме того, существующие технологии получения сухого экстракта расторопши предусматривают использование неполярных растворителей (четырёххлористого углерода, бензина и др.) для обезжиривания извлечений, остатки которых могут отрицательно сказываться на гепатопротекторной активности препарата.

Целью настоящего исследования явилась разработка новой технологии сухого экстракта расторопши пятнистой.

Материалы и методы. В работе использовались известные методы экстракции лекарственного растительного сырья и способы их расчета [9], методы определения структурно-механических характеристик материалов [1], а также спектрофотометрические методы анализа сырья и извлечений из семян расторопши пятнистой [5].

Результаты и их обсуждение. На первом этапе необходимо было разработать полупродукт - жидкий экстракт 1:2. Согласно патенту РФ № 2102999 получение жидкого экстракта «ведут 80% этиловым спиртом методом реперколяции сначала при комнатной температуре, затем при 60-85°C» [6], что усложняет технологический процесс и снижает биологическую активность экстракта, т.к. флаволигнаны являются термолабильными веществами [7].

Для экстрагирования семян расторопши пятнистой мы выбрали метод реперколяции. При этом методе, как известно, большое значение имеет число ступеней экстракции, которое влияет, с одной стороны, на продолжительность производственного процесса, с другой, на полноту экстрагирования и эффективность использования исходного сырья.

Учитывая то, что извлечение будет являться полупродуктом при получении сухого экстракта, с целью повышения эффективности экстракции нами выбрано соотношение сырья и экстрагента 1:2. Для установления оптимального числа ступеней экстракции мы исследовали динамику извлечения избранным экстрагентом – 80% спиртом, рекомендованным для экстракции флавоноидов и флаволигнанов из семян расторопши [6]. Для измельчения мы использовали метод вальцевания, хорошо разрушающий внутреннюю структуру семян расторопши и позволяющий сохранить фильтрационные характеристики слоя сырья в перколяторе.

Постановка эксперимента

Для исследования перехода экстрагируемых компонентов из семян расторопши в жидкую фазу мы смоделировали систему, состоящую из батареи перколяторов. Во все перколяторы равными порциями загружали рассчитанное количество измельченных вальцеванием семян расторопши. Объем экстрагента – 80% спирта, отмеривали из расчета соотношения исходное сырье:готовый продукт 1:2 и с учетом рассчитанного нами коэффициента поглощения $K_n = 1,5$.

Эксперименту предшествовал химический анализ сырья с определением исходного количества суммы флаволигнанов ($C_{исх.} = 2,7 \%$). На каждой стадии экстрагирования мы отбирали пробы извлечения объемом 1 мл, разбавляли в мерной колбе на 25 мл, затем возвращали в систему 1 мл чистого экстрагента.

Содержание флаволигнанов определяли по методикам, описанным в литературе [5,10].

Принимая исходное содержание веществ в сырье ($C_{исх.}$) за 100%, мы рассчитывали по формуле (1) выход анализируемых веществ ($C_i, \%$) на каждой стадии экстрагирования (табл. 1).

$$C_i(\%) = \frac{X_i(z)}{X_{исх.}(z)} \cdot 100 \quad (1)$$

где X_i и $X_{исх.}$ – абсолютные величины, сумма анализируемых веществ (г), содержащихся в отделенной от сырья жидкой фазе и в использованной для экстрагирования массе исходного сырья.

Таблица 1

Динамика извлечения флаволигнанов из семян расторопши 80% этиловым спиртом

Анализируемые показатели	Стадии экстрагирования							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Флаволигнаны %	0,83	1,35	1,84	2,12	2,18	2,24	2,29	2,35
Степень истощения сырья по флаволигнанам, %	30,7	50,0	68,1	78,5	80,7	82,8	84,9	87,1

Данные по приросту концентрации флаволигнанов в зависимости от числа ступеней экстрагирования наглядно отражены на графике (рис. 1)

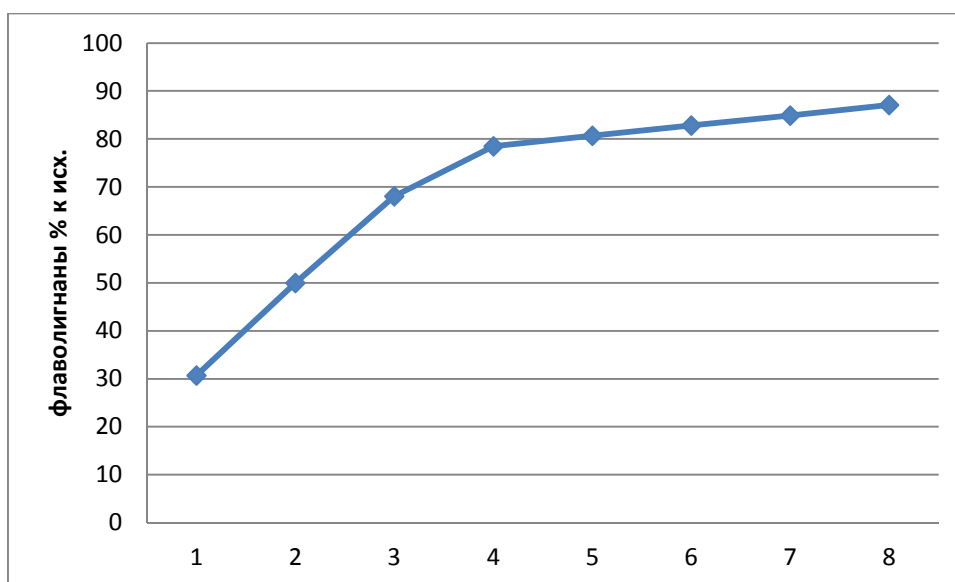


Рис. 1. Прирост концентрации флаволигнанов в зависимости от числа ступеней экстрагирования

Из данных рисунка видно, что 80% этанол, применительно к семенам расторопши, на первой ступени экстрагирует флавоноидов около 30% от их содержания в сырье. Эти данные согласуются с физико-химическими свойствами этих веществ, в частности растворимостью в избранном экстрагенте. На последующих стадиях происходит постепенное увеличение концентрации анализируемых веществ в жидкой фазе (экстракте), причем прирост концентрации экстрагируемых веществ ΔC_i , который наблюдается от стадии к стадии, мы рассчитывали по формуле (2):

$$\Delta C_i = C_{i+1} - C_i, \text{ где } i \neq 0 \quad (2)$$

Относительные (в %) величины прироста (3) концентрации представлены в табл. 2

$$\Delta C_i(\%) = \frac{\Delta C_i}{C_i} \cdot 100 \quad (3)$$

Таблица 2

Постадийный относительный прирост концентрации флаволигнанов

Анализируемые вещества -флаволигнаны	Прирост концентрации, %						
	ΔC_1	ΔC_2	ΔC_3	ΔC_4	ΔC_5	ΔC_6	ΔC_7
Прирост концентрации ΔC_i ,	19,3	18,1	10,4	2,2	2,1	2,1	2,2

Оценка полученных результатов позволила установить, что изменение величины прироста концентрации наиболее активно происходит в диапазоне числа ступеней от 1 до 4. Формула (4) позволяет рассчитать коэффициент прироста k_{np} :

$$k_{np} = \frac{\Delta C_{i+1}(\%)}{\Delta C_i(\%)} \quad (4)$$

Коэффициент прироста характеризует степень увеличения концентрации действующих веществ на каждой последующей стадии экстрагирования.

Установленная динамика зависят от множества факторов, главными из которых являются постоянство химического состава всей сырьевой массы, подвергающейся экстрагированию, и технологические условия (температура, наличие конвекции и т.д.). Тем не менее, проведенные нами эксперименты показали возможность и целесообразность использования коэффициента прироста для предварительной оценки эффективности всего технологического процесса уже после первых двух стадий экстрагирования.

Для расчёта числа ступеней равновесных многоступенчатых способов экстрагирования может быть использовано уравнение [9]:

$$\eta = \frac{\lg \left(1 - \frac{B}{100} \right)}{\lg a - \lg u} \quad (5)$$

где η – число ступеней экстракции; B – заданная степень истощения сырья; a – коэффициент поглощения сырья; u – количество жидкой фазы на единицу массы сырья.

Расчёты показали, что при заданной степени истощения сырья (B) 95% и соотношении сырьё – экстрагент 1:2 число ступеней экстракции (η) будет следующим:

$$\eta = \frac{\lg \left(1 - \frac{95}{100} \right)}{\lg 1,5 - \lg 3,5} = 3,57 \approx 4$$

Практические выводы, полученные нами в результате проведенных наблюдений согласуются с рекомендациями, приведенными в литературе на основании статистически и математически обработанных экспериментальных данных [5].

Таким образом, извлечение получали методом реперколяции на лабораторной установке, представляющей собой батарею из 4 перколяторов. Сырьё заливали 80% спиртом в соотношении 1:2 и проводили реперколяцию с завершённым циклом. Извлечения объединяли. Получено 3 серии жидкого экстракта расторопши 1:2 из сырья разных партий,

которые подвергали анализу, т.к. полученные извлечения являются полупродуктами в технологии сухого экстракта (табл. 3).

Таблица 3

Показатели качества жидкого экстракта расторопши 1:2

Показатель качества	Серия		
	1	2	3
Внешний вид	Жидкость тёмно-коричневого цвета, при разбавлении водой образует светло-желтую эмульсию		
Сухой остаток, %	4,92±0,34	4,68±0,32	4,86±0,29
Содержание флаволигнанов, %	1,2±0,12	1,12±0,09	1,17±0,09
Содержание спирта, %	73,8±2,1	74,5±2,0	74,0±1,8

Попытка выпаривания жидкого экстракта семян расторопши пятнистой 1:2 привела к его расслоению на маслянистую жидкость и малорастворимую в воде смолистую массу темного цвета. Представляло интерес подобрать наполнители, способные в максимальной степени поглотить экстракт, содержащий вещества различной полярности. Это необходимо для того, чтобы после выпаривания и сушки на единицу массы экстракта приходилось максимальное количество флаволигнанов. Поэтому изучена возможность сорбции жидкого экстракта на различных наполнителях, представленных в таблице 4. Максимальное количество жидкого экстракта, способного сорбироваться на носителе, устанавливалось путем изучения реологических характеристик увлажненных масс на коническом пластомере КП-3[1].

Экстракт вводился в порошки наполнителей и тщательно гомогенизировался. Через каждые 2% введения экстракта измерялась глубина погружения конуса в массу и устанавливалась пластическая прочность увлажненной массы по формуле:

$$\Theta_0 = K \frac{m}{h^2} \quad (6)$$

Таблица 4

Составы наполнителей

Наименование ингредиентов	Содержание компонентов, % и № состава			
	1	2	3	4
Лактоза	100,0	75,00		
Кальция фосфат двузамещенный			100,0	
Кальция карбонат основной		25,0		
Полипластолон XL-10				100,0
Количество поглощенного экстракта (%)	24,0	48,0	58,0	240,0
Предельное напряжение сдвига $\Theta \cdot 10^{-2}$ Па	525	475	410	425

Результаты изменения предельного напряжения сдвига при введении экстракта расторопши жидкого в наполнители различных составов показаны на рисунке 2

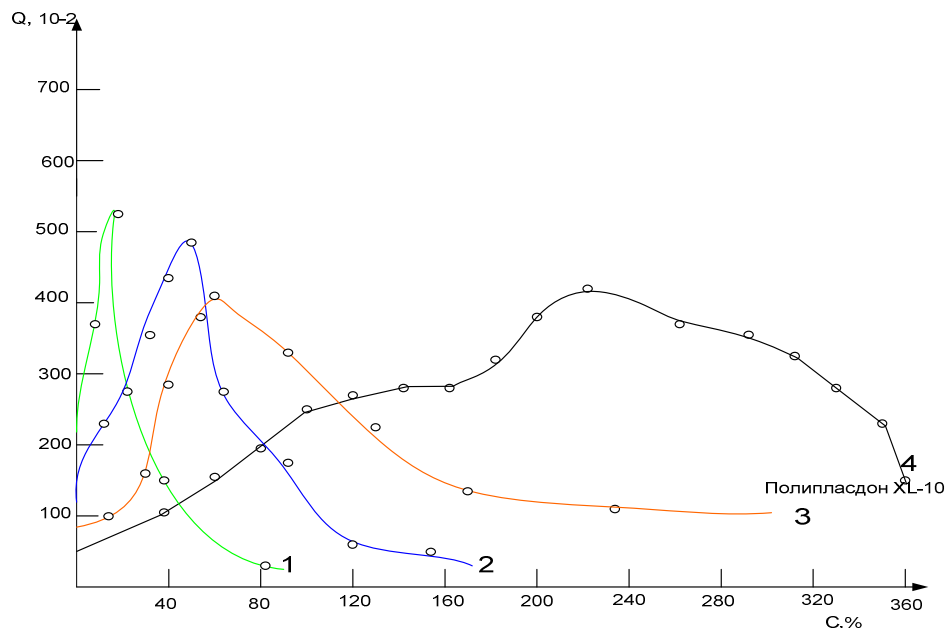


Рис.2.Изменение предельного напряжения сдвига $\Theta \cdot 10^{-2}$ Па при введении экстракта расторопши жидкого в наполнители различных составов

Как следует из рисунка, в отличие от других наполнителей, которые переходили в суспензионное состояние при введении уже 40% жидкого экстракта, максимальная пластическая прочность массы с полипластоном наблюдалась при добавлении 240% экстракта, а в суспензионное состояние масса переходила лишь после 360% (!) добавления жидкой фазы.

Сухой экстракт расторопши пятнистой получали путем добавления к 240 частям жидкого экстракта 1:2 100 частей полипластолон XL-10, тщательного перемешивания до однородности. В дальнейшем сорбированный на полипластолоне экстракт подвергался сушке под вакуумом при температуре не выше 40°C и измельчался в ступке до частиц, проходящих сквозь сито 0,25 мм. Полученный сухой экстракт расторопши имел вид мельчайшего порошка желтого цвета.

Анализ полученного сухого экстракта показал, что содержание суммы флаволигнанов в пересчете на силибин составляет $2,44 \pm 0,034$, что близко к содержанию в сухом экстракте расторопши (ФСП 42-3879-99) [10] – 2,8-3,8%. На основании проведенных аналитических исследований установлено, что сорбция основных физиологически-активных компонентов (флавоноидного комплекса экстракта расторопши) на полипластолоне обратима. Это можно объяснить тем, что полипластолон не образует ионных комплексов субстанциями, что может задерживать высвобождение лекарства [8].

Список литературы

1. Андрианов Е.И. Методы определения структурно-механических характеристик порошкообразных материалов. – М.: Химия, 1982. – 255 с.
2. 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. 36.
3. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств. // Хим.-фармац. журнал. – 2003. – Т. 37. – №4. – С. 27-41.
4. Фитохимическое исследование лекарственных растений родов родиола, тополь, ива, расторопша, одуванчик, содержащих флавоноиды / В.А. Куркин, Г.Г. Запесочная, Е.В. Авдеева, и др. // Современные аспекты изучения лекарственных растений: научные труды. – М., 1995. – С. 151-157.
5. Методика количественного определения силибина и суммы флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой/ В.А. Куркин, М.Ф. Сенцов, Е.В. Авдеева и др. // Самарский медицинский архив. – 1996. – № 1. – С.71-76.
6. Пат. 2354396 Российская Федерация, МПК А61К36/185, А61Р 1/16. Способ получения экстракта из обезжиренных плодов расторопши пятнистой / О.К. Антонова (РФ), ЗАО "Вифитех" (РФ) №2008105487/15; заявл. 15.02.200825.; опубл. 10.05.2009. – Бюл. № 13.– 8 с.
7. Пат.2102999 Российская Федерация, МПК А61К35/78, 9/08 Способ получения экстракта расторопши пятнистой/ В.А. Куркин, А.А. Лебедев, Е.В. Авдеева, Г.Г. Запесочная, С.В. Первушкин, Л.В. Симерзина, М.В. Булатова (РФ). - №96114047/14; заявл. 10.07.1996; опубл 27.01.1998. – Бюл. № 3 от 27.01.98 г. – 6 с.
8. Применение супердезинтегрантов в твердых дозированных лекарственных формах / И.В. Воскобойникова и др. // Фармация. – 2005. – №2. – С. 35-37.
9. Пшуков Ю.Г, Муравьев И.А. Расчет соотношения фаз при производстве жидких экстрактов периодическим противоточным многоступенчатым равновесным способом экстрагирования с постоянным соотношением фаз с законченным циклом // Фармация. – 1986. – Т. 35, №.1. – С. 32-35.
10. ФСП 42-3879-99. Расторопши экстракт сухой. – 8 с.

Рецензенты:

Сампиев А.М., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармации ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Краснодар;

Пантюхин А.В., д.фарм.н., доцент, зав. кафедрой фармации ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» МЗ РФ, г. Саратов.