

Название: Растворимость флаволигнанов расторопши в водных растворах.

Авторы: Бутенко С.С., Лукашов Р.И.

Актуальность: Флаволигнаны расторопши пятнистой (силимарин) обладают доказанными гепатопротекторными свойствами [1 - 3]. На фармацевтическом рынке присутствуют только три лекарственных формы силимарина:

- сухой экстракт расторопши пятнистой (LEGALON (Madaus) и его аналоги);
- силимарин в виде фитосом с высокой биодоступностью (SILIPHOS [4]);
- химически модифицированный силибинин для внутривенного введения (LEGALON-SIL (Madaus)).

На фармацевтическом рынке РФ присутствует только ЛЕГАЛОН и его аналоги, т.е. силимарин в виде сухого экстракта, обладающий низкой биодоступностью.

Фармацевтическому рынку РФ требуются собственные лекарственные формы силимарина с высокой биодоступностью.

Первым шагом в разработке новой лекарственной формы является изучение физико-химических свойств АФИ, в частности, его растворимость.

Цель: Изучить растворимость флаволигнанов в водных растворах в зависимости от рН при температурах 25⁰С и 37⁰С.

Материалы: Сухой экстракт расторопши пятнистой.

Методы:

Пробоподготовка растворов соляной кислоты с рН от 1,0 до 7,0.

Готовят серию растворов соляной кислоты с рН от 1,0 до 7,0.

В пробирку вносят 100 мг сухого экстракта расторопши пятнистой, 10 мл раствора соляной кислоты с определенным рН, интенсивно перемешивают, измеряют рН суспензии и, при необходимости, доводят до исходной рН.

Из пробирки при интенсивном перемешивании, пока суспензия однородна, отбирают по 2 мл суспензии в 4 пластиковые пробирки с крышкой по типу «Эппендорф», укупоривают, устанавливают в твердотельный термошейкер, инкубируют 48 ч на 90 об/мин при 25⁰С или 37⁰С.

Пробирки центрифугируют при 10 г 10 мин, надосадочную жидкость анализируют на жидкостном хроматографе.

Пробоподготовка растворов гидроксида натрия с рН от 8,0 до 14,0.

Готовят серию растворов гидроксида натрия с рН от 8,0 до 14,0.

В пробирку вносят 10 мл раствора гидроксида натрия с определенным рН, порциями вносят сухой экстракт расторопши пятнистой и интенсивно перемешивают, пока на дне пробирки не образуется слой осадка высотой 1 см, измеряют рН суспензии и, при необходимости, доводят до исходной рН.

Из пробирки при интенсивном перемешивании, пока суспензия однородна, отбирают по 2 мл суспензии в 4 пластиковые пробирки с крышкой по типу «Эппендорф», укупоривают, устанавливают в твердотельный термошейкер, инкубируют 24 ч на 90 об/мин при 25⁰С или 37⁰С.

Пробирки центрифугируют при 10 г 10 мин, 1,0 мл надосадочной жидкости доводят до 10,0 мл раствором вода : метанол (1:1) и анализируют на жидкостном хроматографе.

Условия хроматографирования.

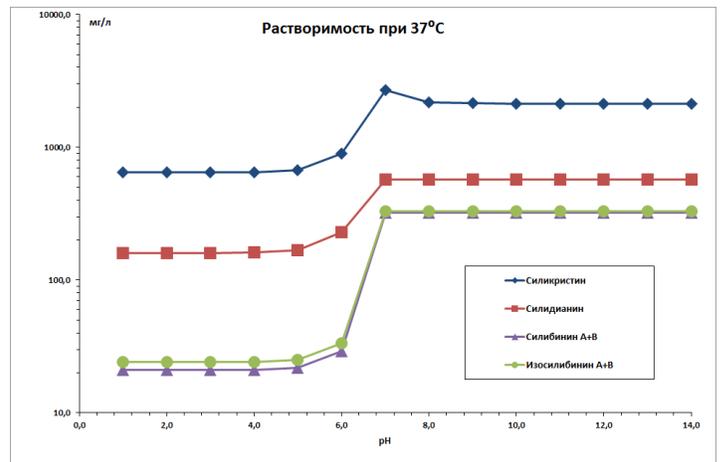
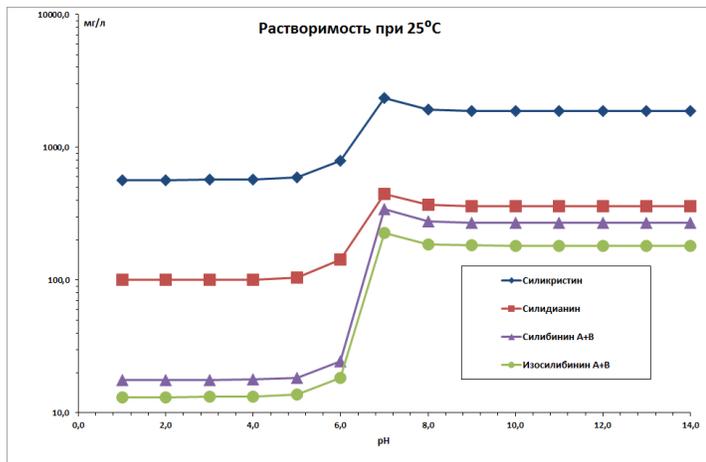
Разделение индивидуальных флаволигнанов проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, USA) по 2-м методикам:

1. На колонке LiChrospher 100 RP-18 endcapped (4,0x125мм, 5,0мкм) при 30⁰С. Подвижная фаза состояла из кислоты фосфорной : метанола : воды (0,5:35:65, об/об/об; элюент А) и кислоты фосфорной : метанола : воды (0,5:50:50, об/об/об; элюент В). Градиентное элюирование начиналось с 0 % элюента В с линейным увеличением до 100 % на 28 мин и дальнейшем изократическом элюировании до 35 мин

при скорости подвижной фазы 0,8 мл/мин. Детектирование производилось при 288 нм на спектрофотометрическом детекторе. Объем инъекции был от 1,0 мл до 100,0 мл в зависимости от концентрации индивидуальных флаволигнанов.

2. На колонке XBridge C18 (4,6x100мм, 3,5мкм) при 30⁰С. Подвижная фаза состояла из кислоты муравьиной : воды (0,1:100, об/об; элюент А) и кислоты муравьиной : метанола (0,1:100, об/об; элюент В). Градиентное элюирование начиналось с 36,5 % элюента В с линейным увеличением до 50,0 % на 9 мин и дальнейшем изократическом элюировании до 10 мин при скорости подвижной фазы 1,5 мл/мин. Детектирование производилось при 288 нм на спектрофотометрическом детекторе. Объем инъекции был от 1,0 мл до 100,0 мл в зависимости от концентрации индивидуальных флаволигнанов.

Результаты: Определена растворимость индивидуальных флаволигнанов в водных растворах в диапазоне рН от 1,0 до 14,0 при температурах 25⁰С и 37⁰С.



Выводы:

1. Флаволигнаны, как полифенольные соединения проявляют слабокислотные свойства.
2. Растворимость и гидрофильность флаволигнанов растет в ряду силикристин – силидианин – силибинин – изосилибинин.
3. Растворимость флаволигнанов растет с ростом рН раствора.
4. При низких значениях рН (например, в желудочном соке) флаволигнаны находятся в молекулярной форме и обладают минимальной растворимостью. С ростом рН (например, в кишечном соке) растворимость флаволигнанов растет, но, все равно, не достаточно для полной биодоступности нативного экстракта.
5. Флаволигнаны способны образовывать соли, растворимость которых на порядок выше растворимости молекулярной формы.

Литература:

1. de Avelar CR at all. «Efficacy of silymarin in patients with non-alcoholic fatty liver disease — the Siliver trial: a study protocol for a randomized controlled clinical trial» *Trials*. 2023, 24 (1): 177. doi:10.1186/s13063-023-07210-6.
2. Wah Kheong C, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. «A Randomized Trial of Silymarin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis» *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017, 15 (12): 1940. doi:10.1016/j.cgh.2017.04.016. Epub 2017 Apr 15.
3. Yang Z, Zhuang L, Lu Y, Xu Q, Chen X «Effects and tolerance of silymarin (milk thistle) in chronic hepatitis C virus infection patients: a meta-analysis of randomized controlled trials» *BioMed Res. Int*. 2014, 2014: 1–9. doi:10.1155/2014/941085.
4. Barzaghi N at all. «Pharmacokinetic studies on IdB 1016, a silybin- phosphatidylcholine complex, in healthy human subjects» *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1990, 15 (4): 333. doi:10.1007/bf03190223