

РОЗДІЛ 9. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 636.612.017:636.2

РОЗТОРОПША ПЛЯМИСТА (ДІЮЧІ РЕЧОВИНИ, МЕТОДИ ЇХ ОТРИМАННЯ ТА СТАБІЛІЗАЦІЇ)

Данко Г.В.

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького,
м. Львів, Україна, e-mail: anna24lviv@rambler.ru*

У статті наведено огляд основних методів екстрагування біологічно активних речовин з розторопші плямистої. Описані як найпростіші методи (пресування) одержання настоек, настоїв, пресованої олії з насіння розторопші, так і застосування методів ультразвукової, мікрохвильової екстракції, промислової перколяції, холодної та флюїдної екстракції під тиском для отримання комплексного екстракту флавоноїдних фракцій – силімарину.

Ключові слова: розторопша плямиста, комплекс силімарину, екстракція холодним методом, олія, настій, відвар, настойка, ультразвукова, мікрохвильова та флюїдна екстракція.

Розторопша плямиста – *Silybum marianum* із сімейства складноквіткових (айстрових). Багаторічна рослина, батьківщиною якої прийнято вважати Середземномор'я. Це одно- або дворічна колюча рослина висотою до 1,5 м, її особливістю є наявність білих плям на листі. В Україні розторопша плямиста відома під назвами чортополох молочний, святий чортополох, Марусин чортополох, татарник [1].

Зрілі плоди розторопші використовують у виготовленні лікарських препаратів, зокрема для одержання екстракту флавоноїдних фракцій – силімарину.

Силімарин – суміш ізомерів флаволігнанів, до складу котрої входить силібін, силікрістін і силідіанін, а також невелика кількість інших стереоізомерів. Силібін становить 50–70 % від загальної кількості флаволігнанів у рослині і проявляє найвищу біологічну активність. У плодах розторопші плямистої флаволігнани в найвищих кількостях на суху речовину (до 7 %) містяться в оболонці насіння, дуже мало їх (до 0,12 %) у насінні та у корені рослин [1, 2].

Окрім цього плоди розторопші містять білок – 17–18 %; ліпіди – 10–11 %; жирні кислоти 30–40 %; флаволігнани – 2–3%, каротиноїди – 1,6 %; токофероли – 17–18 %, відновлені і невідновлені цукри – 2,0 %. У незначних кількостях наявна ефірна олія – 0,08%, оксифлавін, попередники вітаміну А, групи В (В1, В5, В12), D, F, E, K, смоли, сліди сапонінів та алкалоїдів, біогенні аміни (тирамін, гістамін), кварцетин, дегідрофлавонол, таксифолін, оптично активний дигідродиконіферилловий спирт, органічні кислоти, чинник Т (що підвищує число тромбоцитів у крові) тощо [3].

З макроелементів до складу насіння входять (у мг/г): калій – 9,2, кальцій – 16,6, магній – 4,2, ферум – 0,08; мікроелементи (мкг/г): купрум – 1,16, марганець – 0,1, цинк – 0,71, хром – 0,15, селен – 22,9, йод – 0,09, бор – 22,4. Встановлено, що розторопша накопичує важливі біологічні елементи, зокрема селен і купрум, які, сукупно з вітаміном Е, стимулюють утворення антитіл і посилюють імунну систему організму, регулюють стан серцево-судинної системи, активізують еритропоез [4, 5].

В олії з плодів розторопші містяться органічні кислоти: миристинова – 0,9 %, пальмітинова – 8,01 %, стеаринова – 4,79 %, олеїнова – 20,73 %, лінолева – 56,57 %, нонадецилова – 1,11 %, арахінова – 2,7 %, бегенова – 2,09 % і лігноцерінова – 0,69 % [6].

У даній статті піде мова про узагальнення знань щодо виділення біологічно активних речовин з розторопші плямистої, оскільки дану рослину використовують як препарат з усім переліком біологічно активних речовин, або займаються екстрагуванням тільки комплексу силімарину. Нами було проведено вивчення, аналіз та описання найбільш застосовуваних методів одержання біологічно активних речовин з розмелених стиглих плодів розторопші плямистої.

Терапевтична ефективність препаратів з плодів розторопші плямистої різностороння і базується на декількох механізмах дії: силібін – стимулює рибосомальний синтез протеїну, що приводить до підвищення відновної здатності печінки і утворення гепатоцитів; всі флаволігнани здійснюють стабілізуючу дію на мембрани гепатоцитів і попереджують проникнення гепатотоксинів у внутрішню частину клітини, олії впливають на покращення репаративних процесів, активізації росту грануляційних тканин та прискорення загоєння опіків та ран, що довго не загоюються [7, 8].

Найпростішим та найдавнішим способом є одержання відвару з плодів розторопші. Ще стародавні греки 2000 років назад використовували цю лікарську форму для лікування хвороб печінки. Рецепт виготовлення відвару простий: 30 грам розмелених плодів заливають 500 мл гарячої води і кип'ячать на водяній бані до моменту випарювання двох третіх води. Одержана форма білого кольору, з приємним запахом. Вважається, що в даній лікарській формі зберігається до 50 % флаволігнанів силімарину,

мікро- та макроелементи, деякі вітаміни, білий відтінок забарвлення пов'язаний з виходом білків та їх частковою руйнацією. Ця лікарська форма не стійка, присутність цукрів та білку дає можливість використовувати відвар лише впродовж 2 діб [9].

Наступним способом екстрагування діючих речовин є одержання настойки. Для цього розмелені плоди заливають етиловим спиртом у 40 % концентрації та мацерують два тижні з періодичним помішуванням. Даний спосіб використовують як в домашніх умовах так і на фармацевтичних підприємствах за допомогою механізмів з вихровою або турбоекстракцією, де сировина вихровим методом перемішується в екстрагенті та одночасно подрібнюється. Турбінна мішалка обертається зі швидкістю 8000–13000 об/хв. Час екстракції займає від 20 до 40 хвилин в залежності від об'ємів екстрагуючої сировини. Існують також модифікації даних мішалок, де додається підігрів екстрагенту до 40 – 60 °С, з неперервною циклічною екстракцією, з прогонкою екстрагенту під високим тиском. Одержаний екстракт є спиртовим, і його одержують в 5 разів більше об'єму рослинної сировини. У разі потреби проводять відгонку спирту або упарювання спирту у вакуумі до 20 – 25 % від першопочаткового об'єму. Одержаний екстракт є тягучим, багатим на олійні компоненти, вітаміни, мікроелементи, та на жаль вихід комплексу силімарину досягає не більше 50–54 %. Але, якщо передбачається застосування саме цього повнокомпонентного екстракту то подальші технологічні дії припиняються. А, якщо, в подальшому планується виготовлення сухого екстракту силімарину, то наступним етапом технології є дворазова обробка бензином. Для екстракції жирних кислот беруть розчинник в кількості 20 % об'єму екстракту. Кожна екстракція бензином проводиться протягом 20 хвилин, а відстоювання – 30 хвилин. Осадження силімарину з обезжиреного екстракту проводять 0,05 % розчином соляної кислоти та фільтрують, останній етап це висушування екстракту силімарину. На цей час такий спосіб є одним з самих поширених на території пострадянських країн [9].

Найпростішим методом вважається – метод пресування. Недоліком даного методу є низький вихід цільового продукту (олія розторопші), а також нестабільність олії при зберіганні за рахунок попадання в неї в ході пресування ферменту ліпази та інших супутніх речовин, зокрема білків, що сприяють виникненню гіркоти олії. При цьому олія мутна, не відстоюється за час зберігання і використовують її як біологічно активну добавку, додають в тісто у хлібопекарській промисловості. У фармацевтичній технології використовують рідко.

Одним із способів одержання всього комплексу біологічно активних речовин розторопші плямистої є холодний віджим. Олія одержана цим методом використовується в медичній практиці, оскільки в ній зберігається максимальне число біологічно активних речовин, макро- та мікроелементів.

Одержання жирної олії проводять з подрібнених плодів зрідженим газом хладоном – 12 при температурі 10–28 °С, під тиском 3,5–6,0 кгс/см² протягом 1,5 годин у замкнутому циклі, при одночасному випарюванні одержаного екстракту. Тиск розчинника в напорних ємкостях при подачі в екстрактори підтримують на 0,1–1,5 кгс/см² вище, ніж тиск екстракту в випарювачі після виходу з екстракторів. У випарювачі екстракт нагрівають до температури 50 °С. При цьому розчинник, проходячи крізь шар сировини, екстрагує розчинні елементи (жирну олію, фосфоліпіди та інші ліпофільні компоненти), а після цього крізь фільтр зливається у випарювач. Подача розчинника відбувається знизу, а зливається зверху. Екстрагування ведуть 5-кратною за об'ємом кількістю хладону-12. Це одержання екстракту шляхом проточної екстракції, де розчинник використовується повторно. Кінцевий продукт – прозора олія, зеленувато-жовтого кольору, без осаду, термін придатності до 2 років, має стабільну консистенцію та містить всі жиророзчинні компоненти плодів розторопші плямистої.

Деякі європейські підприємства користуються методом рідинної екстракції з допомогою надкритичних флюїдів. Цей процес базується на унікальних властивостях розчинників, які знаходяться в надкритичному стані. У порівнянні з рідкими розчинниками надкритичні флюїди відрізняються більш високим коефіцієнтом дифузії та низьким коефіцієнтом поверхневого натягу і в'язкістю, що дозволяє значно збільшити швидкість екстракції. Щільність надкритичних флюїдів можна порівняти за величиною з щільністю рідини. Даний метод є повністю автоматизованим, дає високий вихід готового повнокомпонентного екстракту, максимальний час екстрагування 1,5–2 години. Негативним фактором є висока вартість обладнання та самого процесу екстракції [10, 11, 12].

Відносно новим методом є метод флюїдної екстракції під тиском (інша його назва - прискорена екстракція розчинником). У літературі зустрічається також інформація про рідинну екстракцію під тиском та екстракцію розчинником під тиском. Це автоматизований метод, що призначений, для екстракції цільового компоненту з твердих та напівтвердих речовин із використанням органічних розчинників, води та водно - органічних сумішей при підвищеній температурі та тиску, що дозволяє підвищити ефективність екстракції при малій витраті розчинника. Використання підвищеної температури дозволяє прискорити процес екстракції, зберегти розчинник в рідкому стані, що забезпечує безпеку та швидке екстрагування.

Для розторопші плямистої характерним є одержання водних екстрактів. При цьому екстрагент подається під високим тиском 15,5 МПа в капіляр попереднього нагріву екстрагенту, де розчинник нагрівається від 100 °С до 250 °С, а далі в екстрактор з сировиною, що в свою чергу знаходяться в термостаті. Екстракт попадає в охолоджуючий капіляр, де рідина охолоджується до 20 °С. Екстракція триває протягом 40–60 хвилин.

При використанні води в субкритичному стані в якості екстрагенту значно збільшується доля екстракційних речовин. Максимальне виділення силібину і силідианіну при екстракції субкритичною водою спостерігається за температури 250 °С, а для таксифоліну і силікрістіну - за температури 150 °С. Це пов'язано з тим, що дані речовини менш термічно стабільні, ніж силібін і силідианін.

Наведені дані характерні для водних екстрактів, хоча цим способом можна одержувати спиртові, спиртово-ефірні екстракти із значною кількістю силімаринів [9, 10, 11].

Одержання, як всього спектру біологічно активних речовин так і окремих діючих речовин з рослинної сировини є можливим при застосуванні мікрохвильового поля в поєднанні з обробкою ультразвуком [13, 14]. Зміна температур дозволяє активізувати екстракцію сухої рослинної сировини для всіх видів в'язких неполярних екстрагентів. Вплив мікрохвиль на процес виділення

біологічно активних речовин із лікарської сировини залежить як від самої твердої матриці, так і від природи використаного розчинника. Одним з методів керування селективністю екстракції є використання суміші розчинників різної полярності. Наприклад, при використанні розчинника з низькою діелектричною константою, у взаємодію з мікрохвилями вступає тільки матриця, при цьому розчинник не нагрівається. Даний підхід успішно використовується в екстрагуванні діючих речовин розторопші плямистої. Для одержання таких термочутливих речовин, розмелені плоди розторопші плямистої спочатку підлягають регідрації (насичення водою) до початку екстракції.

Метод мікрохвильової екстракції дозволяє значно знизити витрату органічного розчинника (зазвичай до 40 см³), у той час як для екстракції в апараті Сокслета потрібно 100–500 см³. Специфічною особливістю даного способу екстракції є те, що він дає можливість вибірково виділяти компоненти. Велике значення для ефективної екстракції має вибір розчинника, який повинен не тільки добре розчиняти речовину, що ми екстрагуємо, але і активно поглинати енергію мікрохвильового імпульсу та швидко нагріватися.

Перші згадки про ультразвукову екстракцію біологічно активних речовин з природніх об'єктів зустрічається в літературі в 1950 роках. Встановлено, що ультразвуковим впливом частотою 19–44 кГц з рослин можна екстрагувати флавоноїди, дубильні речовини, феноглікозиди, зв'язані кумарини, фенокарболові кислоти з скороченням тривалості процесу екстракції на 1–2 порядки. Причому, найбільш ефективно ультразвукові коливання діють на об'єкт, що знаходиться в рідкому середовищі (наприклад, замочування рослинної сировини), оскільки в цьому випадку при інтенсивності випромінювання більше 1–2 Вт/см² виникає специфічний процес - ультразвукова кавітація. Вплив ультразвуку дозволяє прискорити процес екстракції в 10 – 1000 разів, збільшивши при цьому ступінь одержання біологічно активних речовин [13, 14, 15, 16].

Висновок. Отже, було розглянуто більшість відомих способів одержання екстрактів з плодів розторопші плямистої. Кожен з цих способів має як позитивні так і негативні особливості. Більшість описаних нами способів екстракції є біологічно та екологічно безпечними, та ефективними для даного виду рослин.

Перспективи подальших досліджень полягають у систематичному вивченні сучасних екологічно безпечних та ефективних способів екстракції плодів розторопші плямистої для одержання більш очищених екстрактів та отримання біологічно активного комплексу флавоноїдних фракцій – силімарину.

Список літератури

1. Поспелов С.В. Расторопша пятнистая: Вопросы биологии, культивирования и применения [Текст]/ Поспелов С.В., Самородов В.Н., Кисличенко В.С., Остапчук А.А. – Полтава: 2008. – 164с.
2. Pepping J. Milk thistle: *Silybum marianum*.// J.Pepping //Am. J. Health-Syst. Pharm. 1999, №56 – P. 1195–1197.
3. Цаприлова С.В. Расторопша пятнистая – химический состав, стандартизация, применение [Текст]/ С.В. Цаприлова, Р.А. Родионова// Весник фармации – 2008. - №3. – Вип. 41. – С.92-104
4. Tumova L. *Silybum marianum* in vitro flavolignan production/ L. Tumova et all // Plant Soil Environ 2006. – Vol.52.№10. – P.454-458.
5. Куркин В.А. Антиоксидантные свойства флаволигнанов плодов *Silybum marianum* [Текст]/ В.А. Куркин и др.// Растительные ресурсы. – 2003. – Вип.1 – С.89-94.
6. Сторож Н.М. Масла из семян и плодов расторопши пятнистой как перспективные источники витаминов – антиоксидантов [Текст]/ Н.М. Сторож, И.Н. Цимбал, А.А. Лобанова и др.// Фармакология в XXI веке: инновации и традиции. – 2000. – С. 206-207
7. Куркин В. А. Фенилпропаноиды - перспективные природные биологически активные соединения [Текст]/ В. А. Куркин //Самара, 1996. - 80 с.
8. Лебедев А.А. Средство, обладающее ранозаживляющим и гепатопротекторным действием [Текст]/ А.А. Лебедев, Л.В. Симерзина, П.А. Лебедев.//Патент РФ 2014840. - А 61 К 35/78. - Оpubл. 30.06.94 г. - Бюл. N12.
9. Пономарёв В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья [Текст]/ В.Д. Пономарёв//М.: Медицина, 1976. -204 с.
10. Зилфикаров И.Н. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами [Текст]/ И.Н. Зилфикаров., В.А. Челомбитко, А.М. Алиев// Пятигорск, 2006. - 243 с.
11. Куркин В.А. Способ получения экстракта расторопши пятнистой [Текст]/ Куркин В.А., Лебедев А.А., Авдеева Е.В.// Патент РФ №2102999 от 07.09.1996. - Бюл. изобр. №10 от 27.01.1998.
12. Пиков А.Н. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства [Текст] / Пиков А.Н.// М.: Русский врач, 2004. - 264 с.
13. Брук М.М. Получение лекарственных препаратов из растительного и животного сырья под действием ультразвука. Ультразвук в физиологии и медицине [Текст]/ Брук М.М.// Ростов-на-Дону, 1972.- Т.1. - С.115-116.
14. Молчанов Г.И. Ультразвук в фармации [Текст]/ М.М. Брук// М.: Медицина, 1980. - С. 176.
15. Лукьянчук И.И. Микроволновая экстракция биологически-активных соединений из растительного сырья [Текст]/ И.И. Лукьянчук.// Микроволновые технологии в народном хозяйстве, 2009. - Т.7-8- С.61-65.
16. Гершал Д.А. Ультразвуковая аппаратура [Текст]/ Д.А. Гершал, В.М. Фридман// М.: Энергия, 1967.-300 с.

SILYBUM MARIANUM (ACTIVE AGENTS, METHODS FOR THEIR PREPARATION AND STABILIZATION)

Danko H.V.

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology behalf Gzhitskogo, Lviv, Ukraine

*The article highlights the main methods of extraction of biologically active substances from the *Silybum marianum*. The main problem in selecting the method of extraction is the sensitivity of the complex of silymarin and the presence of proteins, which can complicate the extraction and "contaminate" the extract obtained. Described particular simplest method of obtaining: tincture, infusion and pressed oil from the seeds of milk Thistle. The extracts can be obtained at home, and they contain as part of biologically active substances and the maximum related. In this regard, their shelf life is not long. We have also described*

a more modern methods of obtaining extracts at industrial enterprises, in particular percolation using a turbine stirrer, cold extraction of the halon 12, which is considered one of the most safe and cheap because it removes the phase distillation of the solvent. Methods of ultrasonic and microwave extraction, provide an opportunity to get as monocomplex extracts so complex silymarin, by selection of the extractant. The most promising methodology is the method flude extraction pressure and extraction of the extractants in the supercritical state under pressure. These methods are referred to as environmentally safe, fast but still quite expensive.

Keywords: Silybum marianum, silymarin complex, cold extraction method, oil, infusion, decoction, tincture, ultrasonic, microwave and fluid extraction.

УДК 619.615.9:636.085:632.95

ДИНАМІКА ВМІСТУ ФЕРУМУ, КУПРУМУ ТА ЦИНКУ В ЛЕГЕНЯХ КУРЕЙ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ БІФЕНТРИНОМ

Доценко Р.В.

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: toxi-lab@vet.kharkov.ua*

У статті наведено результати дослідження впливу біфентрину на вміст Феруму, Цинку та Купруму в легенях птиці за умов одноразового перорального введення у дозах 3 та 9 мг/кг. За одноразового введення піретроїду в дозі 3 мг/кг відмічали зміни мікроелементів з першої до сьомої доби дослідження. У групі з дозою 9 мг/кг відмічали зміни дослідних мікроелементів від 4 годин до 14-ї доби дослідження, що вказує на дозозалежний характер токсичного впливу синтетичного піретроїду на вміст мікроелементів у легенях птиці. Також встановлена пряма позитивна кореляція вмісту Феруму та Цинку ($r = 0,88$), що свідчить про високе корелювання даних мікроелементів у легенях курей за умов гострого отруєння біфентрином.

Ключові слова: біфентрин, мікроелементи, кури, гостре отруєння

Зростання масштабів виробництва та застосування пестицидів у сільському господарстві та ветеринарії створюють умови, коли біологічно активні речовини, застосовані для знищення шкідливих організмів, поширюються в навколишньому середовищі. З 725 пестицидів, які використовуються в сільському господарстві 30 належать до групи піретроїдів, що складає 4 % [1].

Біфентрин є діючою речовиною препарату Талстар, який є одним з пестицидів, що тривалий час використовується для боротьби з більш ніж 35 видами шкідників, у тому числі з кліщами і білокрилками, на які не діють піретроїди попереднього покоління [2].

В основі механізму дії піретроїдів на тварин і птицю лежить їх нейротоксична дія на нервово-м'язову систему. Нейротоксичний ефект піретроїдів може проявлятися двома шляхами – викликати тремор (Т-синдром) чи хореоатетозні напади (CS-синдром), причому для альфа-цианопіретроїдів притаманний CS-синдром [3]. Також у механізмі токсичної дії піретроїдів важливе значення має їх вплив на показники обміну речовин, а саме активності ферментів, стану вуглеводного, ліпідного, білкового та мінерального обмінів речовин [4].

Вивчення впливу цифлутрину на процеси дихання клітин печінки та окисне фосфорилування, а також на проникність мембран для катіонів на процеси ПОЛ показало, що даний піретроїд має виражений токсичний ефект на мітохондрії печінки тварин. Це проявлялося у порушенні процесів дихання та окисного фосфорилування, індукції проникності внутрішніх мітохондріальних мембран [5].

Мікроелементи входять у склад ферментів, транспортних білків, гормонів і нуклеїнових кислот, тим самим беручи участь у метаболізмі вуглеводів, білків і ліпідів. При цьому їх запаси в організмі майже відсутні та, навіть, незначні зміни їх вмісту негативно впливають на обмін речовин [6]. Так, Ферум здійснює свою біологічну функцію в організмі, головним чином, у складі гемму – небілкового компоненту гемоглобіну та біологічно активних сполук, таких як: гемоглобін – у складі еритроцитів переносить кисень від легень до органів і тканин, міоглобін – білок м'язової тканини [7]. У клітинах Цинк входить до складу білків мембран та ензимів. Він використовується в якості активуючого та стабілізуючого фактора [8]. Як відомо [9], Купрум каталізує включення Феруму в структуру гемму та сприяє еритроцитопоезу на ранніх стадіях розвитку, впливає на діяльність нервової та серцево-судинної систем [6, 8, 10].

Таким чином, дослідження впливу синтетичних піретроїдів на організм тварин, які надходять у дозах, що не викликають загибелі тварин і прояву специфічних клінічних ознак є актуальним напрямком досліджень.

Метою роботи було визначення динаміки вмісту Феруму, Купруму та Цинку в легенях птиці за умов гострого отруєння біфентрином.

Матеріали та методи. Дослід проводили на курях кросу «Хайсекс коричневий» віком 400 діб масою 1300–1500 г (n=75). Перед дослідом птицю утримували 14 діб в адаптаційному періоді. Для годівлі використовували повнораціонний комбікорм для курей яєчного напрямку КС – 1-22. Птиця мала вільний доступ до води та корму.