

# ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

А.С. Чубарова<sup>1</sup>, М.А. Капустин<sup>1</sup>, Е.В. Спиридович<sup>2</sup>, В.П. Курченко<sup>1</sup>

## СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОЛИГНАНОВ В ПЛОДАХ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (*SILYBUM MARIANUM* L.) РАЗЛИЧНЫХ ХЕМОРАС

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет

<sup>2</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси

*Проведен анализ состава флаволигнанов плодов расторопши пятнистой различного происхождения, интродуцированных Центральным ботаническим садом НАН Беларуси из 11 ботанических садов Европы. Показано, что в плодах в различном соотношении представлены все основные флаволигнаны: силибинин, силидианин, силикрестин и их изомеры. Выявленные различия в содержании силибина А и В, изосилибина А и В, силикрестина, изосиликрестина и силидианина позволили выделить две хеморасы этого лекарственного растения – силибининовую, содержащую 68–69% силибинина, в котором основную массу составляют силибины А и В, 25–27% силикрестина, и силидианиновую, содержащую 47–57% силидианина на фоне низкого содержания силибинина, в котором основную массу составляют изосилибины А и В, и силикрестина.*

*С помощью метода ВЭЖХ был проведен биохимический анализ вторичных метаболитов флаволигнановой природы в плодах расторопши пятнистой сорта «Золушка», разработанного в Центральном ботаническом саду. Этот сорт отличается высоким содержанием силимарина и может быть использован в качестве перспективного растительного лекарственного сырья при производстве отечественных гепатопротекторных средств.*

**Ключевые слова:** ВЭЖХ, хеморасы, расторопша пятнистая, силимарин, силикрестин, силидианин, силибинин.

### ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные средства из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L., сем. Asteraceae) широко применяются при заболеваниях печени, а также после химиотерапии, для предотвращения развития гепатопатий лекарственной этиологии [1]. Особенность этих средств состоит в многокомпонентном составе флаволигнанов фармацевтической субстанции – силимарина, который используется для их производства. Основными действующими веществами силимарина являются силибин А и В, изосилибин А и В, изосиликрестин, силикрестин и силидианин [2-4]. Их соотношение в лекарственных средствах существенно различается, что создает различия в фармацевтической эквивалентности этих лекарственных средств [5].

Стандартизация плодов расторопши пятнистой в Республике Беларусь проводится согласно частной фармакопейной статье на лекарственное растительное сырье «Расторопши плоды» в Государ-

ственной фармакопее, основанной на Европейской фармакопее, по содержанию силибинина методом жидкостной хроматографии. Показано, что содержание флаволигнанов и их количественное соотношение в силимаринах из плодов расторопши пятнистой может варьировать в широком диапазоне [6]. Ввиду многокомпонентного состава действующего вещества высказывается предположение о том, что стандартизация плодов расторопши пятнистой по одному компоненту может быть недостаточной.

Целью работы являлось определение количества силибинина, силикрестина, силидианина и их изомеров в силимаринах из плодов расторопши пятнистой, интродуцированных Центральным ботаническим садом НАН Беларуси, выявление хеморас этого лекарственного растения, а также характеристика флаволигнанового состава отечественного сорта «Золушка», разработанного в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектом исследования служили плоды расторопши пятнистой, интродуцированные Центральным ботаническим садом НАН Беларуси из 11 ботанических садов Европы: Германия (Берлин), Польша, Словения, Беларусь, Швейцария, Франция, Бельгия, Германия (Дрезден), Италия, Румыния, Франция (Париж).

Получение силимарина проводили по известной методике [7]. Для оценки качественного и количественного состава отдельных флаволигнанов в исследованных силимаринах использовали методику ВЭЖХ для разделения флаволигнанов, описанную в частной фармакопейной статье на лекарственное растительное сырье «Расторопши плоды» в Государственной фармакопее РБ [8]. Анализ проводили на хроматографе Agilent 1100 (Agilent Technologies, США).

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

С использованием фармакопейной методики ВЭЖХ проведен анализ состава изомеров флаволигнанов в экстрактах плодов расторопши пятнистой различного происхождения, выращенных в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси. Содержание силимарина в исследованных экстрактах колебалось от 1,7 до 3,5%. Наибольшее содержание флавоноидов было обнаружено в плодах расторопши пятнистой из ботанических садов Польши (3,5%), Берлина (3,44%), Словении (2,93%) и Италии (2,9%).

Результаты анализа относительного содержания флаволигнанов: силибина А и В, изосилибина А и В, силикристина, изосиликристина и силидианина, входящих в силимарин, представлены в таблице 1.

Сравнительный анализ относительного содержания флаволигнанов в исследованных силимаринах показал, что по преимущественному содержанию силибинина – сумма силибинов А и В, изосилибинов А и В, или силидианина все плоды можно разделить на две группы (таблица 1). В группу с повышенным содержанием силибинина (от 68 до 69%) вошли плоды, полученные из Берлина, Польши и Словении. Вторую группу составляют плоды, в составе которых доминирует силидианин от 44 до 57%. Кроме доминирующих силибинина или силидианина, в этих группах лекарственных растений были обнаружены и другие взаимосвязи по содержанию индивидуальных флаволигнанов.

В первой группе плодов расторопши пятнистой доминирует силибинин, в котором основной вклад вносят силибин А и В, составляющие в среднем 57%, соотношение силибинов и изосилибинов – 5:1. Повышено содержание силикристина, на фоне низкого содержания изосиликристина, их соотношение составляет 40:1.

Во второй группе плодов расторопши пятнистой доминирует силидианин, на фоне низкого содержания силибинина. Основную массу в силибинине этой груп-

Таблица 1 – Относительное содержание изомеров флаволигнанов в силимаринах, полученных из плодов расторопши пятнистой различного происхождения (%)\*

Страна происхождения	Силидианин	Силибинин	Силибин А	Силибин В	Изосилибин А	Изосилибин В	Силикристин+ изосиликристин	Изосиликристин	Силикристин
Словения	3,54	<b>68,21</b>	<b>21,64</b>	<b>35,58</b>	8,27	2,72	<b>28,25</b>	0,54	<b>27,71</b>
Германия (Берлин)	3,84	<b>69,76</b>	<b>22,02</b>	<b>36,23</b>	8,56	2,95	<b>26,39</b>	0,66	<b>25,73</b>
Польша	4,37	<b>68,65</b>	<b>21,77</b>	<b>35,68</b>	8,29	2,91	<b>26,96</b>	0,75	<b>26,21</b>
Швейцария	<b>57,3</b>	28,41	2,17	6,12	<b>10,64</b>	<b>9,48</b>	14,3	<b>8,87</b>	5,43
Италия	<b>56,34</b>	27,93	2,39	6,43	<b>10,28</b>	<b>8,83</b>	15,73	<b>9,2</b>	6,53
Франция	<b>53,07</b>	30,45	2,26	6,19	<b>11,62</b>	<b>10,38</b>	17,47	<b>10,37</b>	6,1
Бельгия	<b>48,75</b>	33,96	2,58	7,36	<b>12,53</b>	<b>11,49</b>	17,29	<b>10,72</b>	6,57
Румыния	<b>48,24</b>	34,16	2,65	7,2	<b>12,74</b>	<b>11,57</b>	17,62	<b>11,2</b>	6,42
Германия (Дрезден)	<b>47,63</b>	33,70	2,37	7,27	<b>12,92</b>	<b>11,14</b>	18,66	<b>12,25</b>	6,41
Беларусь	<b>44,33</b>	38,3	4,97	10,21	<b>12,51</b>	<b>10,79</b>	17,19	<b>8,56</b>	8,63
Франция (Париж)	<b>44,36</b>	37,04	4,12	9,87	<b>12,31</b>	<b>10,74</b>	18,6	<b>10,12</b>	8,48

Примечание: \* – приведены относительные значения в процентах от общего содержания исследованных флаволигнанов, принятых за 100%; различия статистически достоверны при  $p < 0,05$ .

пы плодов составляют изосилибины А и В, соотношение силибинов и изосилибинов составляет 1:2. Содержание силикристина падает и соотношение силикристина и изосиликристина также меняется в плодах этой группы и составляет 1:1,5.

Проведенный кластерный анализ (рисунок 1) на основании относительного содержания флаволигнанов также показал наличие двух групп растений расторопши пятнистой.

Выявленные различия в составе и соотношении флаволигнанов: силибина А и В, изосилибина А и В, изосиликристина, силикристина и силидианина в расторопше пятнистой из различных ботанических садов позволяют сделать вывод о том, что существуют хеморасы этого лекарственного растения. Нами обнаружены две хеморасы расторопши пятнистой: силибининная и силидианиновая, различающиеся по преимущественному содержанию одного из флаволигнанов. Выявление хеморас на основе содержания флаволигнанов послужило основой для последующей селекционной работы, которая привела к разработке сорта «Золушка» данного лекарственного растения, разработанного Центральным ботаническим садом НАН Беларуси (свидетельство селекционера № 0001462 от 15.01.2004). Его дальнейшее использование позволит получить стандартизированное сырье для фармацевтической промышленности.

С использованием методики ВЭЖХ, а также спектрофотометрического метода

количественного определения силимарина [8] дана характеристика разработанного сорта «Золушка» расторопши пятнистой по содержанию силимарина и основных флаволигнанов. Согласно результатам спектрофотометрического анализа, содержание суммы флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой сорта «Золушка» при исчерпывающей экстракции этиловым спиртом составило  $4,14 \pm 0,14\%$ . По результатам ВЭЖХ суммарный выход флаволигнанов составил  $4,05 \pm 0,11\%$ . По относительному содержанию силибинина ( $46,36 \pm 0,81\%$ ), силикристина ( $11,78 \pm 0,27\%$ ) и силидианина ( $38,37 \pm 0,31\%$ ) на основании кластерного анализа можно сделать вывод о том, что этот сорт расторопши пятнистой принадлежит к силидианиновой хеморасе. Следует отметить, что полученный сорт характеризуется повышенным содержанием всех исследованных флаволигнанов, что делает плоды сорта «Золушка» ценным сырьевым источником для получения силимарина и создания отечественных гепатопротекторных средств.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ состава флаволигнанов плодов расторопши пятнистой различного происхождения, интродуцированных Центральным ботаническим садом НАН Беларуси из 11 ботанических садов Европы, показал, что в их состав входят в различном соотношении все основные флаволигнаны: силибинин, силидианин, силикристин и их

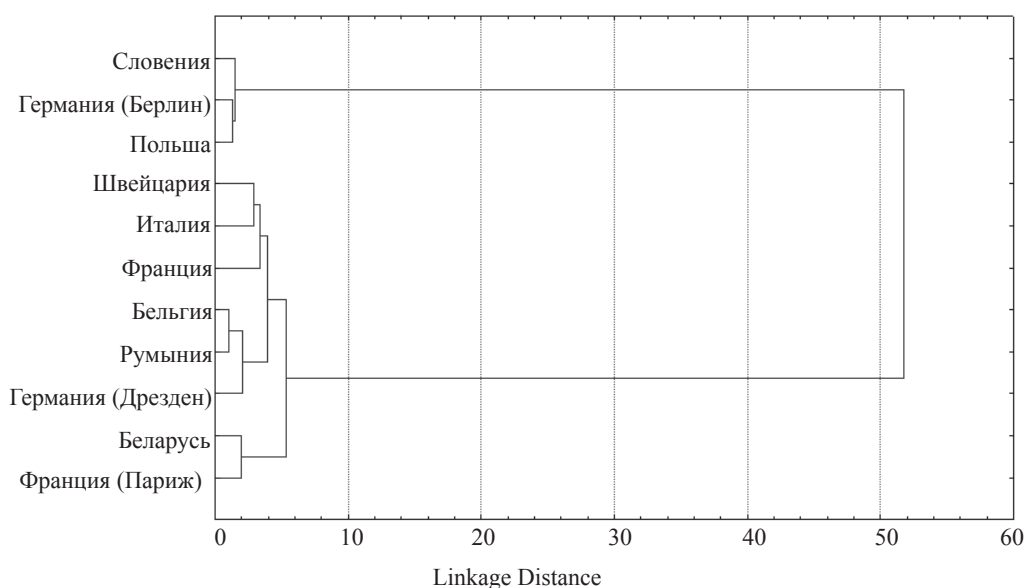


Рисунок 1 – Дендрограмма различия представителей вида *Silybum marianum* L. из коллекции ЦБС НАН Беларуси на основе состава изомеров флаволигнанов

изомеры. Выявленные различия в содержании силибина А и В, изосилибина А и В, силикристина, изосиликристина и силидианина позволили выделить две хеморасы этого лекарственного растения – силибининовую, содержащую 68–69% силибинина, в котором основную массу составляют силибины А и В, 25–27% силикристина, и силидианиновую, содержащую 47–57% силидианина на фоне низкого содержания силикристина и силибинина, в котором основную массу составляют изосилибины А и В.

С помощью метода ВЭЖХ был проведен биохимический анализ вторичных метаболитов флаволигнановой природы в плодах расторопши пятнистой сорта «Золушка», разработанного в Центральном ботаническом саду. Этот сорт отличается высоким содержанием силимарина. В связи с этим он может быть использован в качестве растительного лекарственного сырья при производстве отечественных гепатопротекторных средств.

#### SUMMARY

A.S. Chubarova, M.A. Kapustin,  
E.V. Spiridovich, V.P. Kurchenko  
FLAVOLIGNANS' CONTENT IN MILK  
THISTLE FRUITS (*SILYBUM MARIANUM* L.)  
OF DIFFERENT CHEMORACES

The analysis of flavolignans' composition in milk thistle fruits of different origin, introduced by the Central Botanical Garden of NAS of Belarus from 11 European botanical gardens is presented. It is shown that fruits contain all major flavolignans: silybinin, silydianin, silychristin and their isomers in different ratio. The differences in the content of silybin A and B, isosilybin A and B, silychristin, isosilychristin and silydianin allow to distinguish two chemoraces of this medicinal plant – silybinin and silydianin. Silybinin chemorace contains 68–69% of silibinin, that consists of silybin A and B and 25–27% of silychristin. Silydianin chemorace contains 47–57% of silydianin with the low content of silybinin, that consists of isosilybin A and B, and silychristin.

Using HPLC the biochemical analysis of flavolignans in milk thistle fruit variety «Zolushka», developed in the Central Botanical Garden, was conducted. This variety is characterized by high silymarin yield and can be used as a perspective raw material in the hepatoprotective drugs' production.

Keywords: HPLC, chemoraces, milk thistle, silymarin, silychristin, silydianin, silybinin.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Clinical Applications of *Silybum marianum* in Oncology / H. Greenlee [et al.] // Integr. Cancer Ther. – 2007. – Vol. 6, № 2. – P. 158–165.

2. Сокольская, Т.А. Создание лекарственных средств из плодов расторопши пятнистой (получение, стандартизация и контроль качества): дис. ... д-ра фарм. наук: 15.00.02 / Т.А. Сокольская; Моск. мед. академ. им. И.М. Сеченова. – Москва, 2000. – 79 л.

3. New components from *Silybum marianum* L. fruits: a theory comes true / Sz. Nyiredy [et al.] // Chromatographia. – 2008. – Vol. 68. – P. 5–11.

4. Сокольская, Т.А. Комплексная переработка плодов расторопши пятнистой и создание на ее основе препарата «Силимар» / Т.А. Сокольская // Химико-фармацевтический журнал. – 2000. – Том 34, № 9. – С. 27–30.

5. Щекатихина, А.С. Оценка содержания изомеров флаволигнанов расторопши пятнистой в гепатопротекторных препаратах / А.С. Щекатихина, Н.В. Гавриленко, В.П. Курченко // Вестник БГУ. Серия 2. – № 2. – Минск, 2010. – С. 73–78.

6. Щекатихина (Чубарова), А.С. Гепатопротекторные свойства флаволигнанов / А.С. Щекатихина // Труды Белорус. гос. ун-та. – Минск, 2009. – Т. 4, ч. 1. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – С. 27–48.

7. Щекатихина, А.С. Получение биологически активных веществ из семян расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) / А.С. Щекатихина, Т.М. Власова, В.П. Курченко // Труды Белорус. гос. ун-та. – Минск, 2008. – Т. 3. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – С. 202–209.

8. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Минский государственный ПТК полиграфии, 2006. – С. 712–713.

Адрес для корреспонденции:

220030, Республика Беларусь,  
г. Минск, пр. Независимости, 4  
БГУ, биологический факультет,  
НИЛ прикладных проблем биохимии,  
8-017-209-58-51,  
ann.shchekatihina@gmail.com,  
Чубарова А.С.

Поступила 23.11.2012 г.