



Оригинальная статья/Research article

## Разработка состава и технологии гранулированной лекарственной формы на основе густого экстракта расторопши пятнистой и адеметионина

Д. И. Писарев<sup>1\*</sup>, О. О. Новиков<sup>1</sup>, Е. Т. Жилиякова<sup>2</sup>, Н. Н. Бойко<sup>2</sup>, Р. А. Абрамович<sup>1</sup>,  
О. Г. Потанина<sup>1</sup>, С. Лазар<sup>1</sup>, А. Сайд Ахмад<sup>1</sup>, Р. Нассер<sup>1</sup>

1 – ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Российский университет дружбы народов, РУДН), 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6  
2 – Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ «БелГУ»), 308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

\*Контактное лицо: Писарев Дмитрий Иванович. E-mail: juniper05@mail.ru

ORCID: Д. И. Писарев – <https://orcid.org/0000-0002-2996-7712>; О. О. Новиков – <https://orcid.org/0000-0003-3145-6783>; Е. Т. Жилиякова – <https://orcid.org/0000-0002-4701-7753>;  
Н. Н. Бойко – <https://orcid.org/0000-0001-9222-2935>; Р. А. Абрамович – <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>; О. Г. Потанина – <https://orcid.org/0000-0002-0284-419X>;  
С. Лазар – <https://orcid.org/0000-0002-9339-1180>.

Статья получена: 23.03.2020. Статья принята к печати: 13.05.2020

### Резюме

**Введение.** Создание рациональных комбинированных лекарственных средств, обладающих гепатопротекторной активностью – актуальная задача фармакологии. Адеметионин проявляет фармакологическую эффективность при цитолизе, холестазах, синтетической недостаточности. Силибин, в свою очередь, эффективен при цитолизе, синтетической недостаточности, мезенхимальном воспалении, фиброзе и патологической регенерации. Таким образом, комбинация данных веществ охватывает практически весь набор клинико-морфологических синдромов поражения печени и обладает широким спектром воздействия при различных патологиях печени.

**Цель.** Разработка комбинированной гранулированной лекарственной формы, содержащей густой экстракт расторопши пятнистой, адеметионин и аналитическое обеспечение настоящего процесса.

**Материалы и методы.** Для получения густого экстракта из плодов *Silybum marianum* L. использовали традиционный метод перколяции в батарее из 3 диффузоров. Удаление экстракта проводили с помощью ротационного испарителя ИР-1МЗ под вакуумом. Модельный образец гранул получали методом влажного гранулирования. Формирование гранул осуществлялось с помощью продавливания увлажненной массы через перфорированную поверхность. Для анализа силибина в полученном густом экстракте из плодов *S. marianum* L. использовали метод ОФ ВЭЖХ. Валидационную оценку методики проводили по общепринятым параметрам.

**Результаты и обсуждение.** Была разработана модельная комбинированная лекарственная форма на основе густого экстракта *S. marianum* L. и адеметионина. В качестве вспомогательного агента вводилась лактоза. Оценка качества гранул проводили по общепринятым критериям. Методом ОФ ВЭЖХ определены валидационные параметры изготовленной лекарственной формы. Правильность и прецизионность определяли методом добавок в серии из 9 экспериментальных образцов гранул. Результаты определения линейности, прецизионности и правильности методики определения силибина и адеметионина в комбинированной модельной лекарственной форме показали корректные результаты.

**Заключение.** Разработана комбинированная гранулированная лекарственная форма, содержащая густой экстракт расторопши пятнистой, адеметионин. Проведено аналитическое обеспечение настоящего процесса с использованием метода ВЭЖХ. Осуществлены валидационные исследования разработанной методики. Область применения полученных результатов – практическая фармация. Дальнейшие исследования должны касаться проведения комплекса фармакологических тестов.

**Ключевые слова:** силибин, адеметионин, расторопша пятнистая, гранулы, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** Е. Т. Жилиякова, Н. Н. Бойко, Р. А. Абрамович, С. Лазар разработали комбинированную лекарственную форму, содержащую густой экстракт расторопши и адеметионин. Д. И. Писарев, О. О. Новиков и О. Г. Потанина провели валидацию методики, обработку данных и интерпретацию результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

**Благодарность.** Работа выполнена при поддержке Программы 5-100.

**Для цитирования:** Писарев Д. И., Новиков О. О., Жилиякова Е. Т., Бойко Н. Н., Абрамович Р. А., Потанина О. Г., Лазар С., Ахмад А. С., Нассер Р. Разработка состава и технологии гранулированной лекарственной формы на основе густого экстракта расторопши пятнистой и адеметионина. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2020; 9(2): 106–112.

## Development of the Composition and Technology of a Granular Dosage form Based on a Thick Milk Thistle Extract and Ademetionine

Dmitry I. Pisarev<sup>1\*</sup>, Oleg O. Novikov<sup>1</sup>, Elena T. Zhilyakova<sup>2</sup>, Nikolay N. Boyko<sup>2</sup>, Rimma A. Abramovich<sup>1</sup>,  
Olga G. Potanina<sup>1</sup>, Simon Lazar<sup>1</sup>, Abdulrazak Sayed Ahmad<sup>1</sup>, Raudas Nasser<sup>1</sup>

1 – Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia  
2 – Belgorod National Research University, 85, Pobedy str., Belgorod, 308015, Russia

\*Corresponding author: Dmitry I. Pisarev. E-mail: juniper05@mail.ru

ORCID: Dmitry I. Pisarev – <https://orcid.org/0000-0002-2996-7712>; Oleg O. Novikov – <https://orcid.org/0000-0003-3145-6783>; Elena T. Zhilyakova – <https://orcid.org/0000-0002-4701-7753>;  
Nikolay N. Boyko – <https://orcid.org/0000-0001-9222-2935>; Rimma A. Abramovich – <https://orcid.org/0000-0003-1784-881X>; Olga G. Potanina – <https://orcid.org/0000-0002-0284-419X>;  
Simon Lazar – <https://orcid.org/0000-0002-9339-1180>.

Received: 23.03.2020. Accepted: 13.05.2020

© Писарев Д. И., Новиков О. О., Жилиякова Е. Т., Бойко Н. Н., Абрамович Р. А., Потанина О. Г., Лазар С., Ахмад А. С., Нассер Р., 2020

© Pisarev D. I., Novikov O. O., Zhilyakova E. T., Boyko N. N., Abramovich R. A., Potanina O. G., Lazar S., Ahmad A. S., Nasser R., 2020

## Abstract

**Introduction.** The creation of rational combined medicines with hepatoprotective activity is an urgent task of medicinal science. Ademetionin shows pharmacological effectiveness in cytolysis, cholestasis, synthetic insufficiency. Silybin, in turn, is effective in cytolysis, synthetic insufficiency, mesenchymal inflammation, fibrosis and pathological regeneration. Thus, the combination of these substances covers almost the entire set of clinical and morphological syndromes of liver damage and has a wide range of effects in various liver pathologies.

**Aim.** The purpose of this study was to develop a combined granular dosage form containing a thick extract of milk thistle, ademetionin and analytical support for this process.

**Materials and methods.** To obtain a thick extract from the fruits of *Silybum marianum* L. a traditional percolation method was used in a battery of 3 diffusers. Extractant removal was performed using a rotary evaporator IR-1M3 under vacuum. For the analysis of silybin in the obtained thick extract from the fruit of *S. marianum* L. the method of HPLC was used. Validation evaluation of the method was performed according to generally accepted parameters.

**Results and discussion.** A modular combined dosage form based on a thick extract of *S. marianum* L. and ademetionine was developed. Lactose was introduced as an auxiliary agent. The quality of pellets was evaluated according to generally accepted criteria. The validation parameters of the manufactured dosage form were determined using the HPLC method. Accuracy and precision were determined by the method of additives in a series of 9 experimental samples of granules. The results of determining the linearity, precision and correctness of the method for determining silybin and ademetionin in a combined model drug form showed correct results.

**Conclusion.** Thus, a combined granular dosage form containing a thick extract of milk thistle, ademetionin, has been developed. Analytical support of this process using the HPLC method was performed. Validation studies of the developed methodology were carried out. The field of application of the obtained results is practical pharmacy. Further research should concern the conduct of a set of pharmacological tests.

**Keywords:** silybin, ademetionin, milk thistle, granules, high-performance liquid chromatography, validation.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Elena T. Zhilyakova, Nikolay N. Boyko, Rimma A. Abramovich, Simon Lazar, Abdulrazak Sayed Ahmad, Raudas Nasser developed a combined dosage form containing a thick extract of milk thistle and ademetionin. Dmitry I. Pisarev, Oleg O. Novikov and Olga G. Potanina conducted a validation of the methodology, data processing and interpretation of the results. All authors participated in the discussion of the results and wrote the manuscript.

**Acknowledgment.** This work was supported by Program 5-100.

**For citation:** Pisarev D. I., Novikov O. O., Zhilyakova E. T., Boyko N. N., Abramovich R. A., Potanina O. G., Lazar S., Ahmad A. S., Nasser R. Development of the composition and technology of a granular dosage form based on a thick milk thistle extract and ademetionine. *Drug development & registration*. 2020; 9(2): 106–112.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке преобладают гепатопротекторы растительного происхождения, содержащие суммарные фитокомплексы из плодов расторопши пятнистой – *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

Плоды *S. marianum* L. характеризуются наличием богатого комплекса биологически активных веществ, включающего жирное масло, стерины, горечи, смолы, гетеро- и гомополисахариды и флавоноиды [1]. Однако наибольший интерес представляет уникальная группа – флаволигнаны [2, 3]. В плодах *S. marianum* L. было выделено 12 соединений данной группы, среди которых: силибин, изосилибин, 2,3-дегидросилибин, силандрин, силикрин, силидианин, силимонин, 2,3-дегидросиликрин, изосиликрин, силигермин [4–7]. Доминирующими среди перечисленных соединений являются силибин, силидианин и силикрин, сумма которых имеет общее название *силитарин* [8, 9]. На сегодняшний день лекарственные препараты на основе силитарина являются препаратами-лидерами в терапии заболеваний печени [10, 11].

Гепатопротекторную активность силитарина связывают с одним из его компонентов – силибином. Характерным свойством силибина является его предельно низкая токсичность при выраженной фармакологической активности [3, 12–14]. Ключевыми факторами, обеспечивающими гепатопротекторную активность

настоящего компонента, составляют четыре механизма действия:

- 1) антиоксидантный – обезвреживает активные формы кислорода и регулирует внутриклеточное содержание глутатиона [3]. Силибин повышает активность антиоксидантной защиты, в частности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы [11, 15];
- 2) мембраностабилизирующий – заключается в способности силибина стабилизировать мембраны гепатоцитов и, как следствие, повышать прочность мембран, предотвращая проникновение гепатотоксических агентов через клеточные мембраны, и снижать потерю внутриклеточных метаболитов [16]. Данный эффект является результатом взаимодействия силибина с мембранами гепатоцитов [12]. Силибин оказывает прямое влияние на клеточные мембраны, меняя их качественный состав. В клеточных мембранах увеличивается содержание жирных кислот и фосфолипидов, а содержание триглицеридов и эфиров холестерина в свою очередь снижается [17];
- 3) регенеративно-метаболический – под воздействием силибина происходит активация синтеза белка и регенерация гепатоцитов [18]. Данное свойство основано на способности силибина повышать содержание РНК и цРНК, и синтез рРНК в клетках печени [4]. Таким образом, увеличивается не только число рибосом, но и синтез белка в клетках [19];

4) ингибирование конверсии звёздчатых гепатоцитов в миофибробласты [20, 21].

Еще одним уникальным представителем группы гепатопротекторов является *адеметионин* (син.: S-аденозил-L-метионин, сульфиаденозил-L-метионин, S-аденозилметионин). Данное соединение – производное серосодержащей незаменимой аминокислоты метионина и аденозинтрифосфата. Оно представляет собой активный метионин, который является донатором метильных групп в реакциях трансметилирования [22].

В настоящее время имеется множество результатов клинических исследований, доказывающих эффективность адеметионина при патологиях печени [23, 24].

Адеметионин проявляет фармакологическую эффективность при цитолизе, холестазае, синтетической недостаточности. Силибин, в свою очередь, эффективен при цитолизе, синтетической недостаточности, мезенхимальном воспалении, фиброзе и патологической регенерации [25]. Таким образом, можно сделать вывод о том, что комбинация данных веществ охватывает практически весь набор клинико-морфологических синдромов поражения печени и обладает широким спектром воздействия при различных патологиях печени [26].

Следовательно, создание рациональных комбинированных лекарственных средств, обладающих гепатопротекторной активностью, и аналитическое обеспечение процесса их разработки является актуальной задачей фармации.

Целью настоящего исследования, проводимого в рамках научного направления «Фармацевтический ремейк» [27], явилась разработка комбинированной гранулированной лекарственной формы, содержащей густой экстракт расторопши пятнистой, адеметионин и аналитическое обеспечение настоящего процесса.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования выступили плоды *S. marianum* L. (ФС.2.5.0035.15), субстанция адеметионина (НД-42-4578-05), стандартный образец силибина (Sigma-Aldrich, CAS 22888-70-6, LOT # BCBS2989V, PCod: 101853895, Германия).

Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы Agilent Technologies производства США, оснащённым детектором с диодной матрицей серии 1200 Infinity и обрабатывались с помощью программного обеспечения Agilent Chem Station.

Эффективность колонки (N), коэффициент разделения ( $R_s$ ) и асимметрию пиков рассчитывали согласно рекомендациям Европейской фармакопеи [21].

Сумму флаволигнанов подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях: подвижная фаза: 1,0%-ый водный раствор кислоты уксусной (А); спирт метиловый (Б) в градиентном режиме

элюирования, колонка: *Ascentis express C<sub>18</sub>*, 100 × 4,6 мм; 2,7 мкм фирмы Supelco; скорость подвижной фазы – 0,5 мл/мин; температура колонки +35 °С; объём вводимой пробы 5 мкл; детекция диодно-матричная при длинах волн 290 и 257 нм.

Режим элюирования – градиентный.

Идентификацию изомеров силибина осуществляли по совпадению времён удерживания анализируемого образца со СО силибина.

Содержание силибина в густом экстракте определяли путём растворения 0,1 г указанного объекта в 25 мл спирта этилового 70%-ого. Полученные извлечение подвергали хроматографированию.

Расчёт содержания силибина в объектах проводили по формуле 1:

$$x = \frac{S_x \cdot C_{st} \cdot W \cdot P \cdot 100}{S_{ct} \cdot m_x \cdot B}, \quad (1)$$

где  $S_x$  – среднее значение площади пика анализируемого образца;  $S_{ct}$  – среднее значение площади пика СО силибина;  $m_{st}$  – масса навески СО силибина, г;  $m_x$  – масса навески сырья или экстракта, г;  $W$  – объём мерной колбы, мл;  $P$  – содержание основного вещества в СО силибина, %;  $B$  – потеря в массе при высушивании анализируемого образца, %.

Расчёт содержания силибина и адеметионина в гранулах проводили по формуле 2:

$$x = \frac{S_x \cdot m_{st} \cdot 100 \cdot 100}{S_{ct} \cdot m_x \cdot V_a \cdot (100 - W)}, \quad (2)$$

где  $S_x$  – среднее значение площадей пиков силибина или адеметионина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;  $S_{ct}$  – среднее значение площадей пиков силибина или адеметионина, вычисленное из хроматограмм раствора сравнения;  $m_{st}$  – масса навески СО силибина или адеметионина, г;  $m_x$  – масса навески исследуемого материала, г;  $V_a$  – объём раствора Б, введённый в хроматограф (в случае материалов природного происхождения – 5 мкл);  $W$  – потеря в массе при высушивании материала, г.

Полученные гранулы, содержащие густой экстракт плодов *S. marianum* L. и адеметионин, анализировали согласно соответствующим ОФС.1.4.1.0004.15, ОФС.1.1.0015.15, ОФС.1.4.2.0016.15 и ОФС.1.4.2.0016.15.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для количественной оценки силибина в сырье, промежуточном продукте – густом экстракте и гранулах использован метод абсолютной градуировки. Подтверждение линейности разрабатываемой методики проводили в диапазоне концентраций 0,01–0,1 % раствора СО силибина. По результатам хроматографирования построен градуировочный график зависимости площадей пиков изомеров силибина от концентрации. В выбранном диапазоне кон-

центраций калибровочная зависимость оказалась прямолинейной, уравнение регрессии имело вид:  $y = 28108x - 105,22$ .

Коэффициент корреляции  $R^2 = 0,996$ , что свидетельствует о прямо пропорциональном соотношении между концентрацией и аналитическим сигналом силибина.

Диапазон линейности для адеметионина составил 0,025–0,3 %. В указанном диапазоне калибровочная зависимость была прямолинейной, уравнение регрессии для адеметионина имела вид:  $y = 49139x + 1035,9$ .

Коэффициент аппроксимации составил 0,9902, что свидетельствует о прямолинейной зависимости между концентрацией и площадью пика адеметионина.

Для получения густого экстракта из плодов *S. marianum* L. использовали метод перколяции в батарее из 3 диффузоров. Удаление экстрагента проводили с помощью ротационного испарителя ИР-1МЗ под вакуумом.

Для анализа силибина в полученном густом экстракте из плодов *S. marianum* L. использовали метод ОФ ВЭЖХ.

Результаты хроматографирования спиртового раствора густого экстракта *S. marianum* L. представлены на рисунке 1.

На хроматограмме обнаруживаются два пика со временем удерживания  $t_r = 36,707$  и  $37,278$  мин с пометками площадей пиков, принадлежащие изомерам силибина.

Валидационную оценку методики проводили по общепринятым параметрам. Все валидационные критерии оказались корректными.

На следующем этапе настоящих исследований была разработана модельная комбинированная лекарственная форма на основе густого экстракта *S. marianum* L. и адеметионина.

В качестве вспомогательных веществ – наполнителей и формообразователей использовали лактозу. В качестве увлажнителя в модельном образце гранул, использовалась вода очищенная.

Модельный образец гранул получали методом влажного гранулирования. Формирование гранул осуществлялось с помощью продавливания увлажненной массы через перфорированную поверхность.

Состав модельной лекарственной формы: густой экстракт плодов *S. marianum* L. – 1,266 г; адеметионин – 0,4 г; лактоза моногидрат – 0,33 г.

Модельная смесь представляла собой зерна неправильной формы, желтого цвета и отвечала требованиям ОФС.1.4.1.0004.15 «Гранулы».

Результаты хроматографического изучения гранулированной модельной лекарственной формы на основе адеметионина и густого экстракта *S. marianum* L. представлены на рисунке 2.

Оценку качества гранул проводили по общепринятым критериям, результаты представлены в таблице 1.

Валидационную оценку настоящей методики проводили по общепринятым валидационным критериям.

Прецизионность (сходимость) и правильность методики определяли методом добавок на сериях, полученных из 9 образцов гранул. Результаты представлены в таблицах 2 и 3.

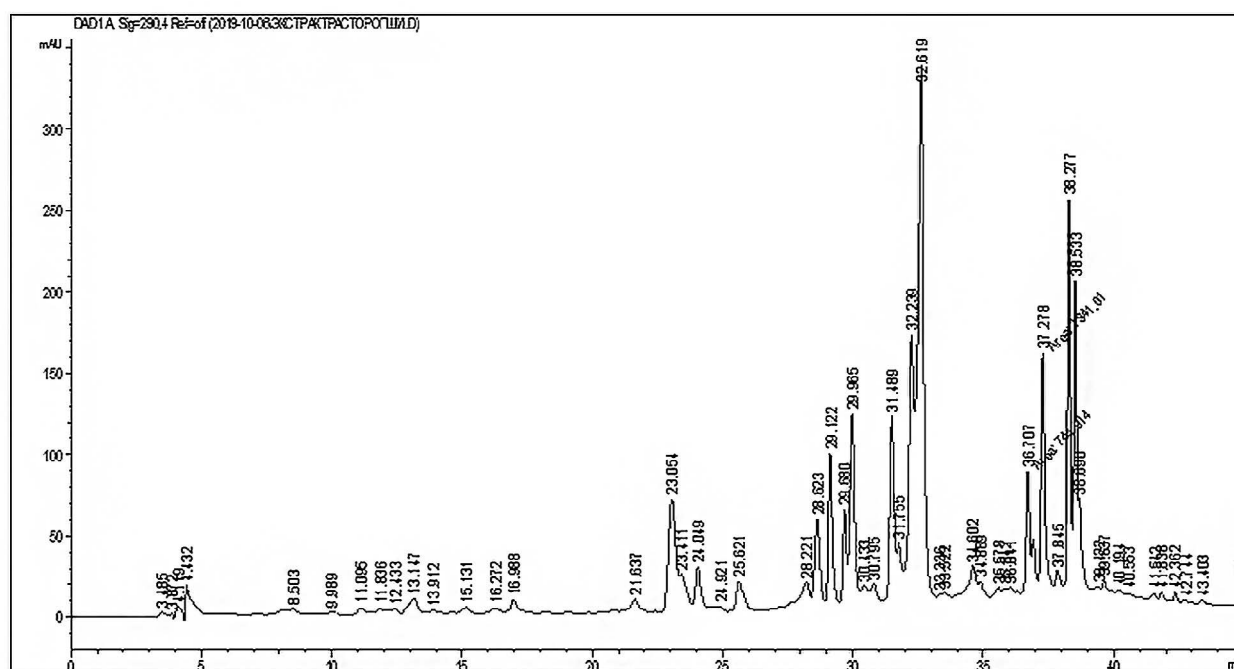
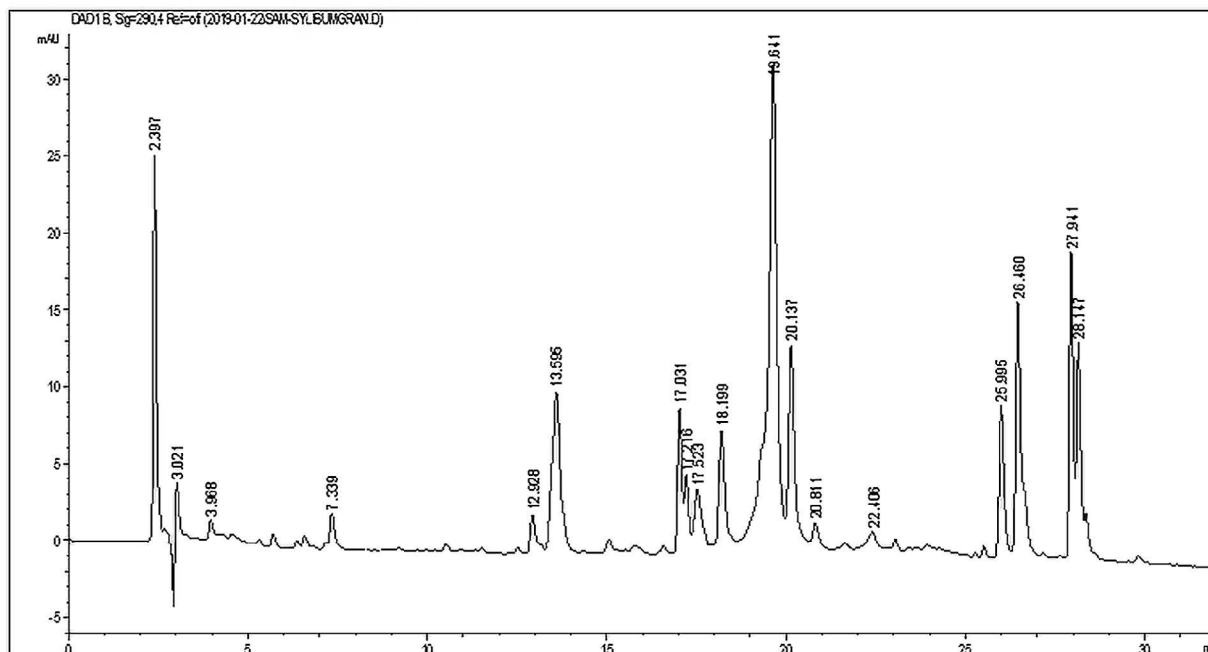
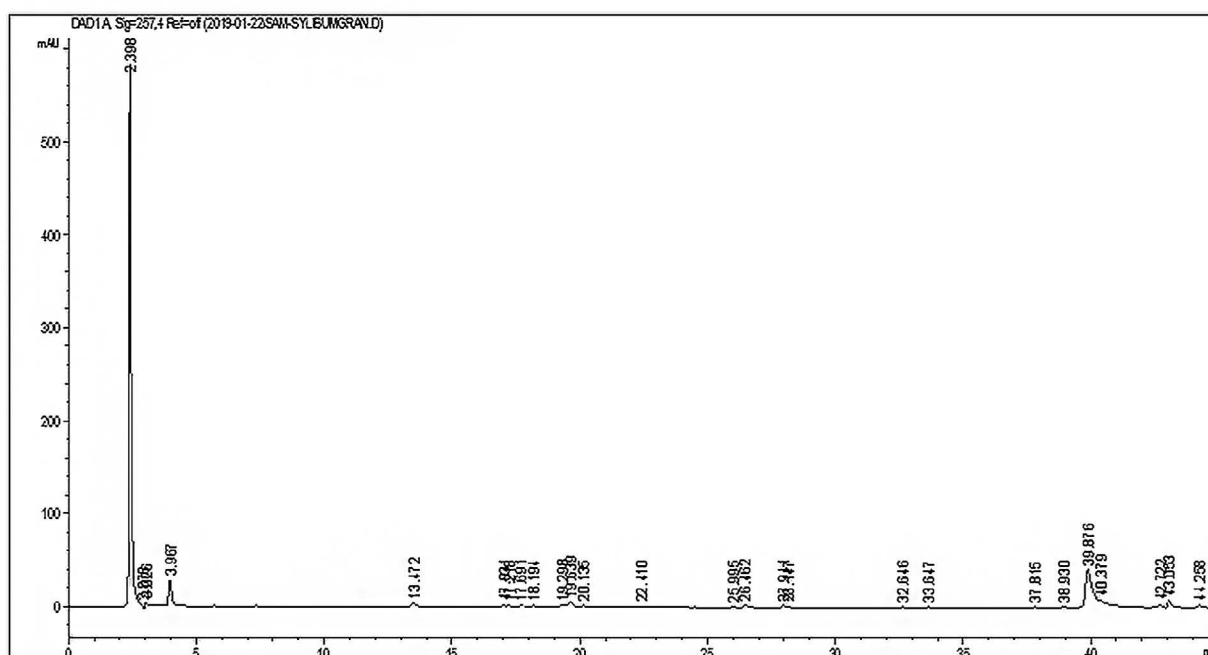


Рисунок 1. Хроматограмма густого экстракта из плодов *S. marianum* L.

Figure 1. Chromatogram of a thick extract from the fruit of *S. marianum* L.



A



Б

**Рисунок 2.** Хроматограмма гранул с густым экстрактом *S. marianum* L. и адеметионином:  
А – детекция диодно-матричная при  $\lambda = 290$  нм; Б – детекция диодно-матричная при  $\lambda = 257$  нм

**Figure 2.** Chromatogram of granules with a thick extract of *S. marianum* L. and ademethionine:  
A – diode-matrix detection at  $\lambda = 290$  nm; B – diode-matrix detection at  $\lambda = 257$  nm

Содержание силибина в плодах *S. marianum* L. составило  $0,048 \pm 0,27$  %. Ошибка единичного эксперимента при доверительной вероятности  $P = 95$  % составила  $0,7$  %.

Содержание адеметионина в густом экстракте составило  $0,4 \pm 0,487$  %. Относительная ошибка сред-

него результата при доверительной вероятности  $P = 95$  % составила  $1,25$  %.

Результаты определения линейности, прецизионности и правильности методики определения силибина и адеметионина в комбинированной модельной лекарственной форме показали корректные результаты.

**Таблица 1.** Технологические характеристики гранул с экстрактом плодов *S. marianum* L. и адеметионином

**Table 1.** Technological characteristics of granules with *S. marianum* L. fruit extract and ademethionine

Показатель	Методика	Экспериментальные значения
Размер частиц	ОФС.1.1.0015.15	1,0–1,2 мм
Форма	ОФС.1.4.2.0014.15	Вытянутая
Насыпная плотность	ОФС.1.4.2.0016.15	563,70 ± 1,31 кг/м <sup>3</sup>
Сыпучесть	ОФС.1.4.2.0016.15	7,05 ± 0,25 г/с
Распадаемость	ОФС.1.4.2.0013.15	10 ± 3 минут
Прочность	ОФС.1.4.2.0004.15	97,91 ± 0,5 %
Высвобождение адеметионина	ОФС.1.4.2.0014.15	99,0 ± 0,10 % (30 минут)
Растворимость в воде	ОФС.1.2.1.0005.15	Умеренно растворимы (1:30)
Остаточная влажность	ОФС.1.2.1.0010.15	2,3 ± 0,6 %
Однородность дозирования	ОФС.1.4.2.0008.15	Выполняется
Содержание: силибина адеметионина	ОФ ВЭЖХ ОФ ВЭЖХ	Не менее 0,048 г Не менее 0,4 г

**Таблица 2.** Результаты опытов с добавками СО силибина для методики количественного определения силибина в гранулах

**Table 2.** The results of experiments with the addition of CO silybin for methods for the quantitative determination of silybin in granules

Взято, г	Добавлено СО, г	Введено, г	Найдено, г	Ошибка		Открываемость, %
				Абсолютная, %	Относительная, %	
0,0481	0,0122	0,0603	0,0602	-0,0001	0,166	99,83
0,0480	0,0124	0,0604	0,0606	+0,0002	0,33	100,33
0,0478	0,0123	0,0601	0,0602	+0,0001	0,166	100,166
0,0482	0,0243	0,0725	0,0723	-0,0002	0,41	99,59
0,0481	0,0245	0,0726	0,0728	+0,0002	0,27	100,27
0,0480	0,0242	0,0722	0,0725	+0,0003	0,41	100,41
0,0481	0,048	0,0961	0,096	-0,0001	0,10	99,9
0,0482	0,0478	0,096	0,0963	+0,0003	0,31	100,31
0,0479	0,0482	0,0961	0,0962	+0,0001	0,1	100,1
Среднее R, %						100,1
RSD, %						0,27
Относительный доверительный интервал $\Delta \% = t(95\%, n-1) \cdot RSD_z \% = 2,57 \cdot RSD_z \%$						0,6939
Систематическая погрешность, $\delta = Z_{cp} - 100$						0,1
Общий вывод о методике						Корректна

**Таблица 3.** Результаты опытов с добавками СО адеметионина для методики количественного определения адеметионина в гранулах

**Table 3.** The results of experiments with the addition of CO ademethionine for the quantitative determination of ademethionine in granules

Взято, г	Добавлено СО, г	Введено, г	Найдено, г	Ошибка		Открываемость, %
				Абсолютная, %	Относительная, %	
0,401	0,103	0,504	0,506	+0,002	0,39	100,39
0,400	0,102	0,502	0,505	+0,003	0,59	100,59
0,403	0,102	0,505	0,503	-0,002	0,4	99,6
0,404	0,203	0,607	0,606	-0,001	0,16	99,84
0,402	0,201	0,603	0,607	+0,004	0,65	100,65
0,403	0,203	0,606	0,601	-0,005	0,83	99,17
0,405	0,402	0,807	0,809	+0,002	0,4	100,4
0,402	0,402	0,804	0,805	+0,001	0,16	100,16
0,401	0,403	0,804	0,804	-	-	100,0
Среднее X, %						100,08
RSD, %						0,487
$\Delta \% = t(95\%, n-1) \cdot RSD_z \% = 2,57 \cdot RSD_z \%$						1,25
Систематическая погрешность, $\delta = Z_{cp} - 100$						0,08
Общий вывод о методике						Корректна

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выполнена разработка комбинированной гранулированной лекарственной формы, содержащей густой экстракт расторопши пятнистой, адеметионин. Проведено аналитическое обеспечение настоящего процесса с использованием метода ВЭЖХ. Осуществлены валидационные исследования разработанной методики.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Науменко А. Г., Шевченко А. М. Выбор рациональной технологии получения сухого экстракта плодов расторопши пятнистой. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 1–2. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22328> (дата обращения: 09.06.2019).
2. Federico A., Dallio M., Loguercio C. Silymarin/silybin and chronic liver disease: A marriage of many years. *Molecules*. 2017; 22: 191. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22020191>.
3. Ahmed-Belkacem A., Ahnou N., Barbotte L. Silybinin and related compounds are direct inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Gastroenterology*. 2010; 138: 1112–1122.
4. Biedermann D., Vavřiková E., Cvak L., Křen V. Chemistry of silybin. *Natural Product Reports*. 2014; 31: 1138–1157.
5. Bijak M. Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.). Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. *Molecules*. 2017; 22: 1942.
6. Calani L., Brighenti F., Bruni R., Del Rio D. Absorption and metabolism of milk thistle flavanolignans in humans. *Phytomedicine*. 2012; 20(1): 40–46.
7. Щекатишина А. С. Гепатопротекторные свойства флаволигнанов. *Труды Белорусского государственного университета*. 2009; 4(1): 27–48.
8. Thakare V. N., Aswar M. K., Kulkarni Y. P., Patil R. R., Patel B. M. Silymarin ameliorates experimentally induced depressive like behavior in rats: involvement of hippocampal BDNF signaling, inflammatory cytokines and oxidative stress response. *Physiol. Behav.* 2017; 1(179): 401–410.
9. Рахымжан Г. Ж., Аралбаева А. Н., Мурзахметова М. К. Оценка влияния фитопрепарата на биохимические показатели крови при

- экспериментальном гепатите. *On line scientific® educational Bulletin «Health and Education Millennium»*. 2016; 18(12): 26–30.
- Ткач С. М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины. *Здоровье Украины*. 2009; 6: 7–10.
  - Abenavoli L., Aviello G., Capasso R., Milic N., Capasso F. Milk thistle for non alcoholic fatty liver disease treatment. *Hepatitis Monthly*. 2011; 11: 173–177.
  - Christodoulou E., Kechagia I. A., Tzimas S., Balafas E., Kostomitso-poulos N., Archontaki H., Dokoumetzidis A., Valsami G. Serum and tissue pharmacokinetics of silibinin after per os and i. v. administration to mice as a HP-β-CD lyophilized product. *Int. J. Pharm.* 2015; 493: 366–373.
  - Kawaguchi Suzuki M., Frye R. F., Zhu H. J., Brinda B. J., Chavin K. D., Bernstein H. J., Markowitz J. S. The effects of milk thistle (*Silybum marianum*) on human cytochrome P450 activity. *Drug Metabolism and Disposition*. 2014; 42: 1611–1616.
  - Kim S. H., Oh D. S., Oh J. Y., Son T. G., Yuk D. Y., Jung Y. S. Silymarin prevents restraint stress induced acute liver injury by ameliorating oxidative stress and reducing inflammatory response. *Molecules*. 2016; 21: 443.
  - Буторова Л. И., Цибилова Т. А., Калинин А. В. Возможности использования Легалона® при неалкогольной жировой болезни печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010; 3: 85–91.
  - Губергриц Н. Б., Фоменко П. Г., Лукашевич Г. М., Голубова О. А. Фармакотерапевтические эффекты и клинические возможности эталонного препарата слимарина. *Фарматека. Гастроэнтерология, гепатология*. 2012; 2(235): 24–31.
  - Pradhan S. C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res.* 2006; 124(5): 491–504.
  - Мехтиев С. Н., Мехтиева О. А., Смирнова М. Н. Фиброз печени как показание для терапии у больных хроническими гепатитами. *Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология*. 2015; 1(2): 22–34.
  - Венгеровский А. И., Огородова Л. М., Перевозчикова Т. В. Иммуномодулирующие свойства гепатопротекторов растительного происхождения при комбинированном применении с преднизолоном на модели токсического гепатита. *Растительные ресурсы*. 2004; 2: 107–113.
  - Крепкова Л. В., Шкаренков А. А., Сокольская Т. А. Экспериментальное и клиническое изучение фитопрепаратов из расторопши пятнистой. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2008; 4: 36.
  - Anstee Q. M., Day C. P. S-adenosylmethionine (SAMe) therapy in liver disease: a review of current evidence and clinical utility. *J. Hepatol.* 2012; 57(5): 1097–109.
  - Cederbaum A. I. Hepatoprotective effects of S-adenosyl-Lmethionine against alcohol- and cytochrome P450 2E1-induced liver injury. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(11): 1366–1376.
  - Loguercio C., Andreone P., Brisc C. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Free Radical Biology & Medicine*. 2012; 52: 1658–1665.
  - Kim E. J., Lee M. Y., Jeon Y. J. Silymarin inhibits morphological changes in LPS stimulated macrophages by blocking NF-κB pathway. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2015; 19: 211–8.
  - Testino G. Silimarin and S-adenosyl-L methionine (SAME): two promising pharmacological agents in case of chronic alcoholic hepatothopathy. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* 2013; 59(4): 341–356.
  - Малютина А. Ю., Правлоцкая А. В., Новиков О. О., Писарев Д. И. Изучение компонентного состава полифенолов травы *Pentaphylloides fruticosus* L. *Фармация и фармакология*. 2018; 6(2). DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2018-6-2-135-150>.
  - Biedermann D., Vavřiková E., Cvak L., Křen V. Chemistry of silybin. *Natural Product Reports*. 2014; 31: 1138–1157.
  - Bijak M. Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (*Silybum marianum* L. Gaernt.). *Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. Molecules*. 2017; 22: 1942.
  - Calani L., Brighenti F., Bruni R., Del Rio D. Absorption and metabolism of milk thistle flavanolignans in humans. *Phytomedicine*. 2012; 20(1): 40–46.
  - Shchekatikhina A. S. Hepatoprotective properties of flavolignans. *Proceedings of the Belarusian state University*. 2009; 4(1): 27–48 (in Russ.).
  - Thakare V. N., Aswar M. K., Kulkarni Y. P., Patil R. R., Patel B. M. Silymarin ameliorates experimentally induced depressive like behavior in rats: involvement of hippocampal BDNF signaling, inflammatory cytokines and oxidative stress response. *Physiol. Behav.* 2017; 1(179): 401–410.
  - Rakhymzhan G. Zh., Aralbayeva A. N., Murzakhmetova M. K. Evaluation of the effect of phytopreparation on blood biochemical parameters in experimental hepatitis. *On line scientific® educational Bulletin «Health and Education Millennium»*. 2016; 18(12): 26–30 (in Russ.).
  - Tkach S. M. Effectiveness and safety of hepatoprotectors from the point of view of evidence-based medicine. *Health of Ukraine*. 2009; 6: 7–10 (in Ukraine).
  - Abenavoli L., Aviello G., Capasso R., Milic N., Capasso F. Milk thistle for non alcoholic fatty liver disease treatment. *Hepatitis Monthly*. 2011; 11: 173–177.
  - Christodoulou E., Kechagia I. A., Tzimas S., Balafas E., Kostomitso-poulos N., Archontaki H., Dokoumetzidis A., Valsami G. Serum and tissue pharmacokinetics of silibinin after per os and i. v. administration to mice as a HP-β-CD lyophilized product. *Int. J. Pharm.* 2015; 493: 366–373.
  - Kawaguchi Suzuki M., Frye R. F., Zhu H. J., Brinda B. J., Chavin K. D., Bernstein H. J., Markowitz J. S. The effects of milk thistle (*Silybum marianum*) on human cytochrome P450 activity. *Drug Metabolism and Disposition*. 2014; 42: 1611–1616.
  - Kim S. H., Oh D. S., Oh J. Y., Son T. G., Yuk D. Y., Jung Y. S. Silymarin prevents restraint stress induced acute liver injury by ameliorating oxidative stress and reducing inflammatory response. *Molecules*. 2016; 21: 443.
  - Butorova L. I., Cibizova T. A., Kalinin A. V. The possibility of using Legalon® with nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2010; 3: 85–91 (in Russ.).
  - Gubergrits N. B. Pharmacotherapeutic effects and clinical capabilities of the reference drug Silymarin. *Pharmateka. Gastroenterology, Hepatology*. 2012; 2(235): 24–31 (in Russ.).
  - Pradhan S. C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J. Med. Res.* 2006; 124(5): 491–504.
  - Mekhtiev S. N., Mekhtieva O. A., Smirnova M. N. Liver fibrosis as an indication for therapy in patients with chronic hepatitis. *Effective pharmacotherapy. Gastroenterology*. 2015; 1(2): 22–34 (in Russ.).
  - Vengerovsky A. I., Ogorodova L. M., Perevozchikova T. V. Immunomodulating properties of hepatoprotectors of plant origin in combined use with prednisone on the model of toxic hepatitis. *Plant resources*. 2004; 2: 107–113 (in Russ.).
  - Krepkova L. V., Shkarenkov A. A., Sokolskaya T. A. Experimental and clinical study of phytopreparations from milk thistle. *Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2008; 4: 36 (in Russ.).
  - Anstee Q. M., Day C. P. S-adenosylmethionine (SAMe) therapy in liver disease: a review of current evidence and clinical utility. *J. Hepatol.* 2012; 57(5): 1097–109.
  - Cederbaum A. I. Hepatoprotective effects of S-adenosyl-Lmethionine against alcohol- and cytochrome P450 2E1-induced liver injury. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(11): 1366–1376.
  - Loguercio C., Andreone P., Brisc C. Silybin combined with phosphatidylcholine and vitamin E in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Free Radical Biology & Medicine*. 2012; 52: 1658–1665.
  - Kim E. J., Lee M. Y., Jeon Y. J. Silymarin inhibits morphological changes in LPS stimulated macrophages by blocking NF-κB pathway. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2015; 19: 211–8.
  - Testino G. Silimarin and S-adenosyl-L methionine (SAME): two promising pharmacological agents in case of chronic alcoholic hepatothopathy. *Minerva Gastroenterol. Dietol.* 2013; 59(4): 341–356.
  - Malyutina A. U., Pravlotskaya A. V., Novikov O. O., Pisarev D. I. Study of the component composition of polyphenols of the herb *Pentaphylloides fruticosus* L. *Pharmacy and pharmacology*. 2018; 6(2). DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2018-6-2-135-150> (in Russ.).

## REFERENCE

- Naumenko A. G., Shevchenko A. M. The Choice of rational technology for obtaining dry extract of milk thistle fruit. *Modern problems of science and education*. 2015: 1–2. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22328> (accessed 09.06.2019) (in Russ.).
- Federico A., Dallio M., Loguercio C. Silymarin/silybin and chronic liver disease: A marriage of many years. *Molecules*. 2017; 22: 191. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22020191>.
- Ahmed-Belkacem A., Ahnou N., Barbotte L. Silibinin and related compounds are direct inhibitors of hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Gastroenterology*. 2010; 138: 1112–1122.