

УДК 615.322; 615.451.2

## ФИТОСОМЫ – ИННОВАЦИОННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ДОСТАВКИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ

<sup>1</sup>Жилкина В.Ю., <sup>1</sup>Марахова А.И., <sup>1</sup>Кезимана П., <sup>2</sup>Блынская Е.В.

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, e-mail: agentcat85@mail.ru;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, e-mail: rectorat@mma.ru

В статье представлено информационно-аналитическое исследование по строению, методам получения и применению фитосомальных лекарственных форм. Обобщая литературные данные, авторы заключили, что фитосома – это флавоноидная молекула, связанная по крайней мере с одной молекулой фосфатидилхолина. Она является молекулой-гибридом, обладающей высокой растворимостью в липидной и в водной средах. В водных средах фитосомы группируются в мицеллу. Фитосома используется для увеличения биодоступности лекарственного компонента, более направленной доставки, повышения эффективности действия и снижения терапевтической дозы лекарства. Перспективным направлением является расширение ассортимента фитосомальных лекарственных форм, в том числе содержащих не только флавоноиды, но и другие природные гидрофильные соединения. В существующих литературных примерах методы контроля качества фитосом представлены крайне скудно или вовсе отсутствуют и требуют разработки и унификации.

**Ключевые слова:** фитосома, флавоноиды, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, стандартизованный растительный экстракт, биодоступность

## PHYTOSOMES IS THE INNOVATIVE TECHNOLOGY OF DRUG DELIVERY SYSTEMS FOR HERBAL COMPONENTS

<sup>1</sup>Zhilkina V.Y., <sup>1</sup>Marakhova A.I., <sup>1</sup>Kezimana P., <sup>2</sup>Blynskaya E.V.

<sup>1</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, e-mail: agentcat85@mail.ru;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov The first Moscow Medicinal State University, Moscow, e-mail: rectorat@mma.ru

This paper presents an analytical study of information and materials on the structure of phytosomes, methods of their synthesis and their use as a drug delivery method. After studying several literature data, the authors concluded that phytosome is a flavonoid related to at least one molecule of phosphatidylcholine. It is a hybrid molecule with high solubility in lipid and aqueous environments. In aquatic environments, phytosomes are grouped into micelles. Phytosomes are used to increase the bioavailability of drug substance, facilitate a more direct delivery, enhance the drug's effectiveness and reduce its therapeutic dose. A promising direction is the expansion of the range of use and preparation of phytosomes, including not only flavonoids but also other natural hydrophilic substances. In existing literature reports, methods used to control the quality of phytosomes are very few or even non-existent, so there is a requirement for their development and harmonization.

**Keywords:** phytosome, flavonoids, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, standardized herbal extracts, bioavailability

В настоящее время активно разрабатываются новые способы доставки ЛС с целью увеличения их биодоступности [6, 8]. Одной из таких систем являются фитосомы. В этих структурах водорастворимые растительные компоненты вступают в реакцию с фосфолипидами, при достижении равновесия между гидрофильными и гидрофобными радикалами, увеличивается способность преодоления липидного слоя клеточных мембран и растворения в желудочно-кишечных жидкостях [5].

Особый интерес представляют фитосомы с флавоноидами из-за широкого спектра фармакологической активности этих соединений. Однако гидрофильность данного класса существенно снижает их проницаемость через кожный барьер и всасывание в ЖКТ, следовательно, снижается биодоступность флавоноидов и оказываемый эффект [1].

**Целью** настоящего исследования стало информационно-аналитическое исследова-

ние свойств, способов получения и применения новой лекарственной формы – фитосомы.

### Результаты исследования и их обсуждение

*Строение и назначение фитосомы.* Название «фитосома» недаром созвучно с «липосома». В состав обеих лекарственных форм входят липиды, однако строение фитосом существенно отличается от липосомальных лекарственных форм. В структуре липосомы активное вещество либо растворено внутри фосфолипидного «шарика», либо находится в слое мембраны, а также может быть конъюгировано на поверхности мембраны [16, 21]. Фитосома отличается от липосомы тем, что фитокомпонент ковалентно связан с полярной головкой фосфолипидов, являясь неотъемлемой частью мембраны. Некоторые липосомальные препараты действуют в водной среде или буферном растворе, тогда как фитосомы активны с растворителями, имею-

щими низкую диэлектрическую проницаемость [17, 18, 20].

Обобщая литературные данные, можно дать следующее определение понятию фитосома – это флавоноидная молекула, связанную по крайней мере с одной молекулой фосфатидилхолина. Она является молекулой-гибридом, обладающей высокой растворимостью в липидной и в водной средах. В водных средах фитосомы группируются в мицеллу [8, 10, 22].

Несмотря на разницу в строении, сходство фитосомы и липосомы проявляется в их предназначении. Как и липосома, фитосома используется для увеличения биодоступности лекарственного компонента, более направленной доставки, повышения эффективности действия и снижения терапевтической дозы лекарства [5, 16].

В фитосоме активное вещество хорошо преодолевает кожный барьер и предотвращает разрушение фитокомпонентов под действием пищеварительных ферментов и кишечных бактерий. Это приводит к улучшению терапевтической эффективности. Следовательно, дозы, требуемые для достижения желаемого эффекта, также снижаются [20].

На сегодняшний день известны фитосомы с экстрактами гинкго билоба, расторопши, виноградных косточек, боярышника, зеленого чая и женьшеня. Флавоноидные и терпеноидные соединения этих экстрактов хорошо связываются с фосфатидилхолином [5, 18, 19].

Эффективность фитосомальных лекарственных форм доказана клинически. Так, например, гепатопротекторные свойства плодов расторопши пятнистой связаны с присутствием в них силибина [9], который, однако, имеет ограниченную биодоступность. Были проведены клинические испытания силибина в виде фитосомы дозировкой от 240 до 360 мг в течение 150 дней [12]. В качестве контроля использовали «плацебо» ( $n = 117$ ) или силибин вне комплекса ( $n = 49$ ). Для оценки клинического действия были изучены энзимные уровни аспартат-аминотрансферазы (AST), аланин-аминотрансферазы (ALT) и гамма-глутамилтранспептидазы (GGT). Исследователи пришли к выводу, что фитосомальная форма силибина оказывает значительно более выраженный клинический эффект [16].

*Способ получения фитосомы.* Технология получения фитосом предполагает включение фосфолипидов (таких как фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин) в стандартизованные растительные экстракты [5, 16].

Фитосомы получают реакцией взаимодействия между 1–2 молями фосфолипида с 1 молем активного растительного компонента (флавоноиды или терпеноиды) в апротонном растворителе (диоксан, ацетон, метилхлорид, этилацетат). Затем комплекс выделяют путем выпаривания растворителя в вакууме или осаждением с реагентом, таким как алифатические углеводороды, путем лиофилизации или методом распылительной сушки. Наиболее оптимальное соотношение компонентов в фитосоме 1:1 [5, 10, 19].

В литературе встречается ряд методик получения фитосом. Например, для образования комплекса силимарина с соевым фосфатидилхолином 1:1 поступают следующим образом: к раствору 5 г силимарина в 100 мл ацетона добавляют 8 г реактива «Липоид S 100<sup>(R)</sup>», при перемешивании при комнатной температуре. После полной сольubilизации реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема 30 мл и приливают к 300 мл лигроина, при перемешивании. Осадок отстаивают в течение ночи, затем его отделяют фильтрованием, промывают лигроином и сушат в вакууме при 40 °С. Выход составляет 11,2 г комплекса. При изучении спектральных характеристик полученного фитосомального комплекса было установлено, что удельный показатель поглощения составляет 170,2 при 288 нм (растворитель – метанол) [7].

Вторым примером может служить методика получения фитосомы силибина с соевым фосфатидилхолином в соотношении 1:2. К суспензии, содержащей 4,82 г (0,010 моль) силибина в 75 мл диоксана, добавляют при перемешивании 15,4 г (0,020 моль) «Липоид S 100<sup>(R)</sup>». Через 4 часа реакционную смесь лиофилизируют. Выход составил 20 г комплекса светло-желтого цвета с удельным показателем поглощения, равным 106 при 288 нм в растворе метанола [7].

Для получения комплекса силибина с соевым фосфатидилхолином 1:0,3 раствор силибина в диоксане (2,41 г (0,005 моль) силибина на 100 мл диоксана) обрабатывают при 60 °С реактивом «Липоид S 100<sup>(R)</sup>» массой 0,770 г (0,001 моль) в течение 1 часа. Реакционную смесь упаривают досуха в вакууме и остаток переносят в 100 мл хлороформа. Избыток силибина, присутствующий в виде осадка, удаляют фильтрованием, а маточный раствор, содержащий комплекс, выпаривают досуха в вакууме. Полученный остаток сушат при 30 °С под вакуумом. Выход составляет 2,3 г комплекса в виде белого желтого порошка. Удельный показатель поглощения метанольного раствора полу-

ченного комплекса равен 300 при 288 нм ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) [7].

Методика получения фитосомы экстракта гинкго билоба с соевым фосфатидилсеринотом заключается в следующем: 1,87 кг 20% фосфатидилсерина суспендируют в 17,5 л этилацетата при комнатной температуре. Добавляют сухой экстракт гинкго билоба (0,65 кг) и перемешивают. Суспензию выдерживают в течение 1 часа при перемешивании при кипячении с обратным холодильником, затем фильтруют при 70–75 °С и концентрируют при давлении окружающей среды до получения мягкого осадка. Осадок сушат при 40 °С в течение 48 часов. Выход продукта: 2,23 кг комплекса экстракт гинкго билоба – фосфатидилсерин [3].

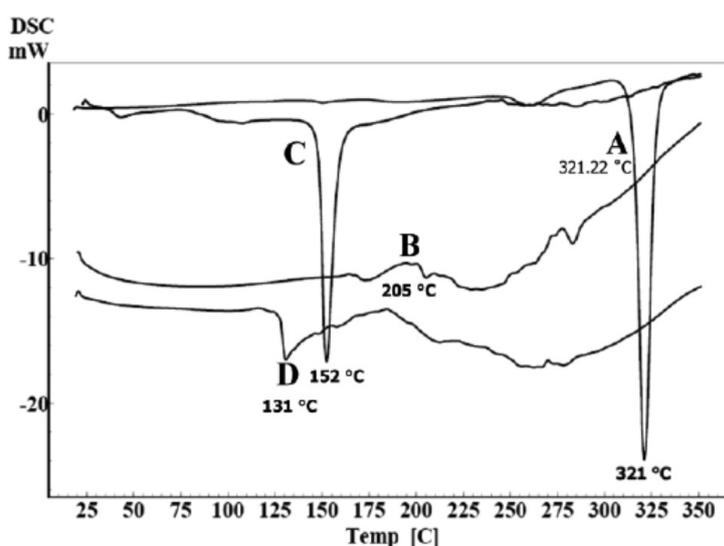
Интерес представляют фитосомы с индивидуальными флавоноидами, поскольку из-за разнообразия фармакологических эффектов этих соединений можно существенно расширить ассортимент лекарственных средств, обладающих хорошей биодоступностью.

Фитосомы кверцетина с фосфатидилхолином и холестерином получают с использованием метода тонкослойной гидратации с различным молярным отношением кверцетина, фосфатидилхолина и холестерина. Кверцетин и фосфатидилхолин растворяют в метаноле, а холестерин – в дихлорметане. Смесь помещают в круглодонную колбу и упаривают на роторном испарителе при 45 °С до образования пленки. Затем с помощью вакуумной сушки полностью удаляют органические растворители. Дополнительно готовый липидный тонкий слой подвергают

воздействию потока газообразного азота и выдерживают в течение ночи при комнатной температуре, чтобы обеспечить полное удаление органических растворителей. Пленку увлажняют дистиллированной водой в роторном аппарате при 45 °С. Для уменьшения размера фитосомы применяют: диспергирование в ультразвуковой ванне при 45 °С, гомогенизацию в центрифуге с 20000 оборотов в минуту и метод ультразвуковой обработки [11, 12].

*Физико-химическая оценка фитосом.* Фитосомы можно охарактеризовать по форме, размеру, плотности распределения, % связанного вещества в объеме, количеству высвобождаемого вещества, стабильности [2, 6, 15].

В литературе встречается пример оценки свойств кверцетин-фосфатидилхолин-холестеринового фитосомального комплекса. Средний размер частиц фитосом, полученных при молярных соотношениях 1: 2: 0 и 1: 2: 0,2 кверцетина : фосфатидилхолина : холестерина, составил 79 нм и 82 нм соответственно. Анализ частиц, проведенный на приборе Malvern, Nano series, S90 Zetasizer, Великобритания, показал узкое распределение. При увеличении концентрации холестерина увеличивалась и толщина липидного бислоя. По результатам исследования эффективность инкапсуляции кверцетина в фитосоме была в пределах 96–98% и не менялась в зависимости от изменений молярных соотношений компонентов системы. Анализ показал, что при добавлении холестерина стабильность фитосом возрастает за счет ограничения ацильных цепей фосфатидилхолина [9, 15].



ДСК-термограмма чистого кверцетина (А), фосфатидилхолина (В), холестерина (С) и фитосомального комплекса (D)

Удельную теплоту плавления определяли с помощью дифференциального сканирующего калориметра (DSC 60, Shimadzu, Япония) [15]. Дифференциальные сканирующие (ДСК) термограммы чистого кверцетина, холестерина, фосфатидилхолина и фитосомального комплекса показаны на рисунке. Эндотермический пик кверцетина наблюдался в 321.22 °С (рисунок, А), соответствующий его точке плавления. ДСК-термограмма фосфатидилхолина и холестерина также показали эндотермические пики при 205 °С и 152.45 °С соответственно (рисунок, В, С). Термограмма фитосомального комплекса (рисунок, D) показала исчезновение эндотермического пика плавления кверцетина и значительное смещение эндотермического пика плавления холестерина в нижних точках плавления. Эти наблюдения показали, что кверцетин был молекулярно распределен на поверхности и внутри матрицы фитосомы и утратил свою кристаллическую структуру. Кверцетин и фосфатидилхолин образуют водородные связи между гидроксильными группами кверцетина и полярной части фосфатидилхолина [2, 15].

В литературе встречаются примеры определения удельной температуры плавления рутин-фосфатидилхолинового комплекса с помощью прибора Perkin Elmer JADE DSC, США. Также данный комплекс исследовали с помощью ИК-спектроскопии на Alpha FT-IR спектрофотометре (Bruker, Германия), образец исследовали на просвечивающем электронном микроскопе JEOL (JEM 2100), Япония [4, 13].

### Выводы

1. По сравнению с традиционными лекарственными растительными формами фитосомы наиболее перспективны в доставке растительных экстрактов, т.к. абсорбция и биодоступность водорастворимых компонентов возрастает благодаря их взаимодействию с фосфолипидами.

2. В литературе присутствуют данные о фитосомах, содержащих преимущественно растительные экстракты, богатые флавоноидами, или индивидуальные флавоноиды. Однако данные о возможности включения других растительных гидрофильных, мало растворимых в воде соединений в липидные комплексы, отсутствуют. Это открывает широкие перспективы для исследователей в разработке методов получения новых фитосомальных комплексов.

3. Фитосомы – как лекарственная форма – новое, только развивающееся направление. Для его правильного становления необходи-

ма разработка единых подходов к оценке качества фитосом. В существующих литературных примерах методы физико-химической оценки этой лекарственной формы представлены крайне скудно или вовсе отсутствуют.

### Список литературы

1. Марахова А.И. Применение физико-химических методов в анализе настоев из сырья лекарственных растений семейства яснотковых / А.И. Марахова // автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. – Москва, 2009.
2. Марахова А.И. Фармация будущего: нанолечение и методы их анализа / А.И. Марахова, Я.М. Станишевский // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – № 1. – С. 72.
3. Патент № 2006127272/15, 27.09.2009.
4. Морациони Паоло, Петрини Орландо, Скоули Эндрю, Кеннеди Дэвид. Применение комплексов гинкго для усиления когнитивных функций и снижения умственного утомления // Патент России № 2368385. 2005.
5. Сейфулла Р.Д. Фармакология липосомальных препаратов / Р.Д. Сейфулла // Глобус континенталь. – 2010. – 241 с.
6. An overview of phytosomes as an advanced herbal drug delivery system / Jagruti Patela, et al. / Asian journal of pharmaceutical sciences. – 2009. Vol. 4(6). – P. 363–371.
7. Bhupen Kalita. Resveratrol-phospholipid complexes (phytosome) with improved physicochemical properties favorable for drug delivery via skin / Bhupen Kalita, Malay K. Das // World journal of pharmaceutical research. – 2015. – Vol. 4. № 05. – P. 1497–1517.
8. Bombardelli Ezlo, Via Ripamonti. Pharmaceutical and cosmetic compositions containing complexes of flavanolignans with phospholipids European Patent, no. 0300282 B1, 1992.
9. Harshal Ashok Pawar. Phytosome as a novel biomedicine: a microencapsulated drug delivery system / Harshal Ashok Pawar, Bhagyashree Dilip Bhargale // J Bioanal Biomed. – 2015. Vol. 7(1). № 06. – P. 6–12.
10. Hikino H., Kiso Y., Wagner H., Fiebig M. Antihepatotoxic actions of flavanolignans from *Silybummarianum* fruits // Planta Med. – 1984. Vol. 50. – P. 248–250.
11. Keerthi B. Formulation and evaluation of capsules of ashwagandha phytosomes / Keerthi B, Prasuna Sundari Pingali, Dr. Prathima Srinivas // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. – 2014. Vol. 29(2). № 25. – P. 138–142.
12. Kharat Amol. Novel drug delivery system in herbal's / Kharat Amol, Pawar Pratibha // International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences. – 2014. Vol. 4(4). – P. 910–930.
13. Kidd P.M. Phosphatidylcholine: a superior protectant against liver disease // Altern Med Rev. – 1996. Vol. 1. – P. 258–274.
14. Malay K Das. Design and evaluation of phyto-phospholipid complexes (phytosomes) of rutin for transdermal application / Malay K Das, Bhupen Kalita // Journal of applied pharmaceutical science. – 2014. – Vol. 4(10). – P. 51–57.
15. Marena C., Lampertico M. Preliminary clinical development of silipide: a new complex of silybinin toxic liver disorders // Planta Med. – 1991. – Vol. 57 – P. 124–125.
16. Nano phytosomes of quercetin: a promising formulation for fortification of food products with antioxidants / Solmaz Rasaie, et al. // Pharmaceutical sciences. – 2014. – Vol. 20. – P. 96–101.
17. Phytosome and liposome: the beneficial encapsulation systems in drug delivery and food application / Nayyer Karimi, et al. // Applied food biotechnology. – 2015. – Vol. 2(3). – P. 17–27.
18. Phytosome: a brief overview / Sanjay Saha, et al. // Scholars academic journal of pharmacy. – 2013. – Vol. 2(1). – P. 12–20.
19. Phytosome: a novel drug delivery system for herbal medicine / Nilesh Jain, et al. // International journal of pharmaceutical sciences and drug research. – 2010. – Vol. 2(4). – P. 224–228.
20. Phytosomes – a review / Nagasamy Venkatesh Dhanda-pani, et al. // International journal of pharmaceutical sciences. – 2014. – Vol. 4. № 4. – P. 622–625.
21. Phytosomes: a novel approach in herbal drug delivery system / Amrita I. Jadhav, et al. // Int.J.Pharm Anal. – 2014. – Vol. 2. № 5. – P. 478–486.
22. Rajendra Awasthi. Phytosome: an approach to increase the bioavailability of plant extracts / Rajendra Awasthi, Giriraj T Kulkarni, Vivek K Pawar // International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. – 2011. – Vol. 3. № 2. – P. 1–3.
23. Recent trends of phytosomes for delivering herbal extract with improved bioavailability / Arijit Gandhi, et al. // Journal of pharmacognosy and phytochemistry. – 2012. – Vol. 1. № 4. – P. 6–14.