

1 – ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8

2 – ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Scientific Research Institute of Nutrition, 2/14, Ustinskiy proezd, Moscow, 109240, Russia

\* адресат для переписки:  
E-mail: sokmary@mail.ru  
Тел.: 8 (495) 698 53 60

# ТЕХНОЛОГИИ ПОВЫШЕНИЯ СТАБИЛЬНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ (ОБЗОР)

Н.Л. Соловьёва<sup>1</sup>, М.С. Сокурёнка<sup>1,2\*</sup>

**Резюме.** Природные полифенолы представляют собой ценные соединения, которые обладают свойствами связывать свободные радикалы и образовывать комплексы с белками. Поэтому фенольные соединения привлекают все большее внимание как потенциальные средства для профилактики и лечения многих окислительных стресс-зависимых заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, рак, старение, диабет и нейродегенеративные заболевания. Полифенольные соединения характеризуются очень высокой чувствительностью к некоторым экологическим факторам, включая физические, химические и биологические, и могут очень быстро окисляться со значительной потерей активности. Разработка новых подходов к стабилизации и защите этих соединений от разрушения и, следовательно, для улучшения их биологической активности представляет интерес. В литературе описаны различные методы инкапсуляции, многие из которых были успешно использованы для растительных полифенолов. В этом обзоре представлены некоторые растительные полифенолы, их основные химические и биологические свойства, а также методы инкапсуляции полифенолов, которые подразделяются на физические, физико-химические, химические и другие методы стабилизации.

**Ключевые слова:** полифенолы; антиоксидант; биодоступность, инкапсуляция.

## TECHNOLOGIES TO IMPROVE THE STABILITY OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS IN DRUG DISCOVERY (REVIEW)

N.L. Solovieva<sup>1</sup>, M.S. Sokurenko<sup>1,2\*</sup>

**Abstract.** Natural polyphenols are valuable compounds possessing scavenging properties towards radical oxygen species, and complexing properties towards proteins. Therefore, phenolic compounds have attracted increasing attention as potential agents for preventing and treating many oxidative stress-related diseases, such as cardiovascular diseases, cancer, ageing, diabetes mellitus and neurodegenerative diseases. Polyphenolic compounds are characterized by a very high sensitivity to several environmental factors including physical, chemical and biological conditions and can be oxidized very quickly with a considerable loss in activity. Development of new approaches to stabilisation and protection of these compounds from degradation and therefore to improve their biological activity is of interest. The literature describes many encapsulation methods, many of which have been successfully used for plant polyphenols. This review provides some plant polyphenols and their basic chemical and biological properties as well as methods of encapsulating polyphenols, which are divided into physical, physico-chemical, chemical methods and other methods of stabilization.

**Keywords:** polyphenol; antioxidant; bioavailability, encapsulation.

## ВВЕДЕНИЕ

Полифенолы представляют собой класс синтетических, полусинтетических, а также природных соединений, содержащихся в большинстве лекарственных и пищевых растений. Представители данной группы характеризуются наличием одного или нескольких бензольных колец и одной или более гидроксильных функциональных групп. В зависимости от химического строения выделяют несколько групп полифенолов [1]:

1. Стилбены (ресвератрол);

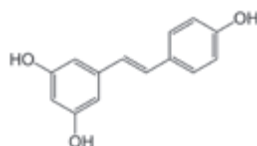


Рисунок 1. Структурная формула ресвератрола

2. Лигнаны (схизандрин);

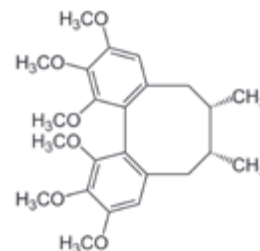


Рисунок 2. Структурная формула схизандрина А

3. Фенолокислоты (производные гидроксibenзойной и гидроксикоричной кислот – феруловая, кофейная и др.);

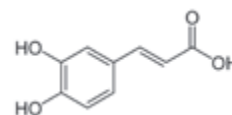
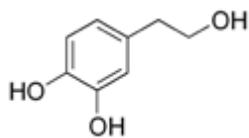


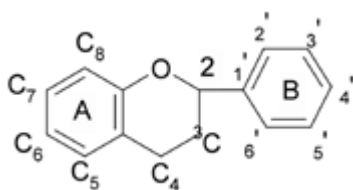
Рисунок 3. Структурная формула кофейной кислоты

4. Фенолоспирты (тирозол и его производные);



**Рисунок 4.** Структурная формула гидрокситирозола

5. Флавоноиды (наиболее широко распространённая и многочисленная; основными представителями являются апигенин, кемпферол, лютеолин, кверцетин, гесперидин и др.). В основе всех флавоноидов лежит соединение, именуемое флаваном (формула приведена ниже).



**Рисунок 5.** Соединение, именуемое флаваном

Источниками полифенолов являются чай, виноград/вино, оливковое масло, кофе, зерновые (рожь, пшеница, овес, ячмень), овощи семейства крестоцветных (брокколи, капуста), кора дуба, соплодия ольхи, корневища и корни кровохлебки, корневища змеевика, плоды аронии черноплодной, цветки боярышника, трава пустырника, трава сушеницы топяной и др. [2, 3, 4].

В последнее время возник большой интерес к растительным полифенолам. Это связано с открытием ряда биологически активных веществ, содержащихся в них, и установлением их роли в профилактике и развитии многих хронических заболеваний.

Эпидемиологические исследования показывают, что потребление полифенолов приводит к снижению риска развития целого ряда заболеваний, включая сердечно-сосудистые, нейродегенеративные [6], специфические формы рака [5]. В исследованиях флавоноидов было обнаружено, что они влияют на метаболизм липидов [7], ингибируют окисление липопротеинов низкой плотности [8], снижают образование атеросклеротических бляшек [9], ингибируют агрегацию тромбоцитов [10], улучшают функцию эндотелия [11] и снижают кровяное давление [12].

Кроме того, полифенолы способны ингибировать негативное воздействие бактериальных, вирусных и грибковых инфекций [13–17], тормозить разви-

тие опухолей [18, 19], а также взаимодействовать с широким числом белков, таких как ферменты, белки тканей и мембранные рецепторы [20, 21], определенным образом модулируя их активность.

Несмотря на все преимущества, полифенолы обладают рядом свойств, затрудняющих процесс получения лекарственных форм, а именно: очень чувствительны к факторам окружающей среды (температура, свет), слабо растворимы в воде в свободной форме, а также быстро метаболизируются и выводятся из человеческого организма. Кроме того, эти соединения часто могут подвергаться окислению с последующей потерей активности, а из-за большой молекулярной массы очень плохо абсорбируются. Все эти факторы снижают стабильность и влияют на биодоступность, резко снижая их эффективность [22]. Также многие полифенольные соединения обладают неприятным и горьким вкусом, который ограничивает их потенциальное применение в форме пероральных препаратов.

Все эти факторы свидетельствуют о необходимости разработки новых стратегий, направленных на создание технологии получения лекарственных препаратов, не нарушающей целостности структурной формулы молекул, на продление срока годности препаратов на основе растительных полифенолов и на повышение их биодоступности.

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ

Эффективность полифенолов зависит от сохранения их структурной целостности при введении в лекарственную форму. Следовательно, основной задачей является изучение причин разрушения и устранение их в процессе производства лекарства.

Чувствительность различных полифенолов к физическим, химическим и биологическим факторам, а также основные виды лекарственного растительного сырья, являющиеся источниками полифенольных веществ, представлены в таблице 1 [23].

Из таблицы видно, что почти все соединения очень чувствительны к теплу, свету, pH и окислению. Для преодоления ряда данных проблем были разработаны способы стабилизации, основным из которых является инкапсуляция, как перспективный подход к защите чувствительных соединений от внешней среды и деградации.

Таблица 1.

Характеристика биологических, химических и физических свойств полифенолов

Класс полифенолов	Соединения	Природные источники	Биологические свойства
Антоцианидины	Цианидин, делфинидин, мальвидин, пеларгонидин, пеонидин, петунидин и их гликозиды	Фрукты, овощи, красное вино, некоторые виды зерновых, зверобой продырявленный (надземная часть), первоцвет многоцветковый (надземная часть), рис посевной (листья), водяника черная (плоды)	Природные пигменты; очень чувствительны к температуре, окислению, pH, свету; водорастворимы. Обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, спазмолитическим, антибактериальным, антиоксидантным и антиканцерогенным свойствами; гепатопротекторы, некоторые из них мощные ингибиторы ферментов
Катехины	Катехин, эпикатехин, галлокатехин, эпигаллокатехин и эпигаллокатехина галлат	Чайные листья, расторопша пятнистая, (плоды), горец змеиный (надземная часть), эвкалипт шариковидный (кора), боярышник мелколистный (листья), вишня кустарниковая (кора), черника обыкновенная (листья), облепиха крушиновая (листья)	Чувствительны к окислению, свету и pH; обладают вяжущим и горьким вкусом; слабо растворимы в воде
Флаваноны	Гесперетин, гесперидин, нарингенин, нарингин	Цитрусовые фрукты (грейпфрут, апельсин, лимон), некоторые виды мяты, зверобой продырявленный (надземная часть), лигустикум шотландский (корневища), курильский чай (листья, цветки), липа сердцевидная (цветки), расторопша пятнистая (плоды), черемуха (древесина, кора)	Чувствительны к окислению, свету и pH; агликоны нерастворимы, но гликозиды растворимы в воде; имеют горький вкус. Обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, спазмолитическим, антибактериальным, антиоксидантным и антиканцерогенным свойствами; гепатопротекторы, некоторые из них мощные ингибиторы ферментов
Флавоны	Апигенин, лютеолин, тангеритин, нобилетин, синенсетин	Фрукты/овощи, петрушка, сельдерей, зерновые (просо и пшеница), кожура цитрусовых, ромашка аптечная (цветы), одуванчик лекарственный (корень), ферула персидская (надземная часть), виснага морковевидная (плод), пажма обыкновенная (цветы), коровяк (медвежье ушко) (листья), хризантема садовая (цветки), бодяк полевой (лист)	Натуральные пигменты. Чувствительны к окислению и pH; агликоны слабо растворимы, но гликозиды растворимы в воде; Обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, спазмолитическим, антибактериальным, антиоксидантным и антиканцерогенным свойствами; гепатопротекторы, некоторые из них мощные ингибиторы ферментов
Флавонолы	Кемпферол, мирицетин, кверцетин и их гликозиды	Фрукты и овощи, красное вино, гингго двулопастный (листья), ясень обыкновенный (лист, почки), боярышник мелколистный (лист, цветки), пустырник пятилопастный (надземная часть), володушка круглолистная (корень, лист, цветки), горец птичий (спорыш) (надземная часть), клевер (надземная часть), актинидия коломикта (лист), фисташка настоящая (лист)	Чувствительны к окислению, свету и pH; агликоны слабо растворимы, но гликозиды растворимы в воде; Обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, спазмолитическим, антибактериальным, антиоксидантным и антиканцерогенным свойствами; гепатопротекторы, некоторые из них мощные ингибиторы ферментов
Изофлавоны	Даидзеин, генистеин, глицитеин	Соевые бобы, арахис, бобовые растения (соя и продукты переработки сои), клевер луговой и полевой (листья), софора японская (плоды), каян индийский (кора), пуэрария тумберга (цветы), хмель обыкновенный (шишки), псоралея лецинолистная (лист, семена)	Чувствительны к щелочной pH; обладают вяжущим и горьким вкусом; имеют соевый запах; растворимы в воде. Обладают противовоспалительным, противоаллергическим, противовирусным, спазмолитическим, антибактериальным, антиоксидантным и антиканцерогенным свойствами; гепатопротекторы, некоторые из них мощные ингибиторы ферментов
Гидроксibenзойные кислоты	Галловая кислота, <i>n</i> -гидроксibenзойная кислоты, ванильная кислота	Чайные листья, пшеница, красные ягоды (малина, черная смородина, клубника), солодка голая (корень), виноградные косточки	Чувствительны к температуре, окислению, pH и свету; наиболее растворимы в воде; весьма ограниченный терапевтический интерес, обладают антимикробной активностью и противовоспалительными свойствами салицилатов. Фунгитоксичны.

Класс полифенолов	Соединения	Природные источники	Биологические свойства
Гидроксикоричные кислоты	Кофейная кислота, феруловая кислота, <i>п</i> -кумаровая кислота, синаповая кислота	Фрукты (киви, черника, яблоки), зерновые культуры (пшеница, рис, овсяная мука) эхинацея (цветы, корень), ромашка аптечная (цветки), одуванчик лекарственный (цветки, корень), лопух большой (листья, плоды), мелисса (листья), мята перечная (листья), крапива двудомная (надземная часть), мать-и-мачеха (листья), калина обыкновенная (плоды)	Чувствительны к окислению и pH; Наиболее слабо растворимы в воде; весьма ограниченный терапевтический интерес, обладают антимикробной активностью и противовоспалительными свойствами салицилатов. Фунгитоксичны.
Лигнаны	Пиноресинол, подофиллотоксин, стеганацин	Льняное семя, кунжут, зерновые (рожь, пшеница, овес, ячмень), крестоцветные овощи (брокколи, капуста) и фрукты (абрикосы, клубника)	Относительно стабильны при нормальных условиях; имеют неприятный аромат; водорастворимы. Гепатопротектор, антимитотическое, противовирусное, гипотензивное и цитостатическое действия, ингибиторы ферментативных реакций
Стильбены	Ресвератрол	Виноград (кожура, мякоть плодов, семена), горец (трава)	Противораковое, противовоспалительное действие
Таннины (проантоцианидины)	Касталин, процианидины,	Чайные листья, ягоды, вино, какао-бобы, береза повислая (кора, листья), эвкалипт мощный (кора, листья), калина обыкновенная (кора, плоды), грецкий орех (кожура), айва продолговатая (семена), гранат обыкновенный (кожура плодов)	Чувствительны к воздействию высоких температур и окислению; обладают вяжущим и горьким вкусом; водорастворимы

## ТЕХНОЛОГИИ СТАБИЛИЗАЦИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

**Инкапсуляция** – это технология помещения твердых частиц, капель жидкости или молекулы газа в мельчайшие формы, которые затем могут высвободить содержимое с контролируемой скоростью при определенных условиях и/или под влиянием определенного фактора [24, 25]. По этой технологии инкапсулированные молекулы заключены в матрицу или под оболочку с получением микрокапсул или микросфер. Размер микрочастиц может варьироваться от 1 микрона до нескольких миллиметров, но в большинстве случаев составляет менее 200 мкм, в то время как наночастицы характеризуются меньшим размером (от 1 нанометра до 1 мкм) [26]. Оболочка может состоять из природных или синтетических полимеров и липидов. Методы инкапсулирования, применяемые к этой группе природных веществ, можно разделить на три основные категории: физические, физико-химические и химические.

Физические методы: распылительная сушка и инкапсулирование с использованием сверхкритических флюидов; физико-химические методы включают коацервацию, ионное гелеобразование, эмульсии и методы, основанные на гидрофобных взаимодействиях (мицеллы, липосомы); примером химического метода является полимеризация *in situ*.

### Распылительная сушка

Распылительная сушка представляет собой одноступенчатый экономичный и гибкий метод инкапсуляции с получением стабильных частиц высокого

качества, который удобен для большего объема производства с непрерывной работой [26]. Несмотря на преимущества, этот метод имеет некоторые недостатки, такие как ограниченное количество доступных материалов для изготовления водорастворимой оболочки с термостабильностью и высокой воздухопроницаемостью, и может привести к разрушению термочувствительных соединений [27]. При использовании более низких температур и подходящих материалов распылительная сушка позволяет сохранять свойства полифенолов.

Метод распылительной сушки (рисунок 6) состоит из следующих основных этапов:

- приготовление жидкой основы, содержащей действующее вещество и оболочку;
- распыление жидкой основы на мельчайшие капли;
- сушка распыленной основы;
- формирование частиц и их наполнение [24].

Полифенолы растворяются или диспергируются в растворе с водорастворимой оболочкой, полученный жидкий продукт гомогенизируют и подают на форсунку. Фаза атомизации позволяет подобрать оптимальные условия для выпаривания до сухого продукта с требуемыми характеристиками.

Распыленная жидкость контактирует с горячим газом, что приводит к испарению растворителя, содержащегося в каплях, в течение нескольких секунд. Полученные частицы собирают после того, как они

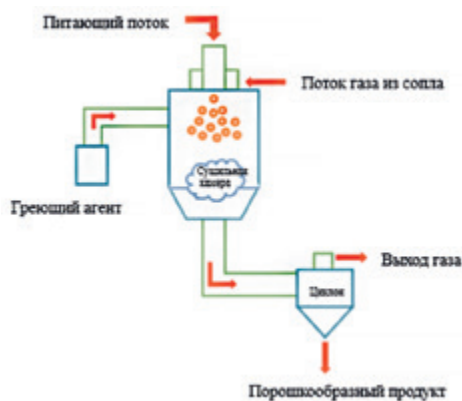


Рисунок 6. Схема распылительной сушилки

падают на дно; они, как правило, имеют сферическую форму со средним размером от 10–100 мкм.

Материал для оболочки должен иметь высокую растворимость в воде и низкую вязкость при высоких концентрациях и должен быть способен сформировать защитный слой, окружающий активное ядро. Наиболее часто используемыми материалами для инкапсулирования полифенолов являются камедь, мальтодекстрин, модифицированный крахмал или их сочетания. Мальтодекстрины получают путем кислотного гидролиза различных типов крахмала. Они обладают высокой растворимостью в воде, низкой вязкостью и хорошей устойчивостью к окислению, но обладают плохой эмульгирующей способностью [28]. Альгинат представляет собой природный полисахарид, состоящий из линейного 1,4-связанного полимера  $\beta$ -D-маннуриновой кислоты и  $\alpha$ -L-гулуриновой кислоты. Гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) является неионным эфиром целлюлозы, синтезированным путем химических реакций. Инулин представляет органическое вещество из группы полисахаридов, полимер D-фруктозы [29]. Альгинат натрия, метил- $\beta$ -циклодекстрин (M- $\beta$ -CD), гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) и инулин были использованы в качестве материала оболочки для сушилки распылением при микрокапсуляции кверцетина и ванилина [30].

Исследования показали, что частицы, полученные с использованием альгината натрия и M- $\beta$ -CD, характеризуются более сферической формой, меньшим средним размером и более высокой удельной поверхностью, чем те, что получены с использованием ГПМЦ или инулина. Эффективность инкапсуляции была выше у ванилина (37-53%), чем у кверцетина (9-19%), что связано с более низкой термической стабильностью последнего. Все эти данные говорят о том, что тип герметизирующего материала может влиять на площадь поверхности порошка, морфологию и эффективность инкапсулирования [23].

Виноградные семена являются источником молекул полифенола, таких как фенольные кислоты, катехины и проантоцианидины [31]. В научно-исследовательской работе группой ученых, изучающих процесс микрокапсуляции путем сушки (распылением экстракта виноградных косточек с использованием мальтодекстрина (MD), мескитовой камеди (MG), зеина (Z), а также их комбинаций [32]), было разработано оптимальное соотношение для покрытия. Полученные результаты показали, что наиболее эффективны смеси, содержащие 44% MG + 56% Z, 34% MD + 66% Z.

## МЕТОД ИНКАПСУЛИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДОВ (СКФ)

Традиционные методы инкапсулирования имеют некоторые ограничения, связанные с использованием органических растворителей и поверхностно-активных веществ, температуры, а также с образованием токсичных продуктов при сушке и, как следствие, с риском разрушения полифенолов [23]. Сверхкритическая жидкость может быть использована в качестве антирастворителя для того, чтобы отделить частицы активных соединений от обычных растворителей.

В сверхкритическом состоянии газы проявляют свойства жидкостей с чрезвычайно высокой растворяющей способностью и обладают свойствами газов, что обеспечивает высокий массообменный потенциал. Растворяющая способность сверхкритических газов в значительно большей степени зависит от физических параметров состояния, чем таковая обычных органических растворителей. Это обстоятельство позволяет посредством изменения только давления или температуры изменять плотность, динамическую вязкость и диффузионные свойства СКФ. Углекислый газ в сверхкритическом состоянии обладает высокой растворяющей способностью, а также имеет следующие преимущества: физиологически безопасен, не горит, не поддерживает горения, не является взрывоопасным газом, безопасен для окружающей среды, не приводит к образованию экологически вредных отходов, бактериостатический, недорогой, доступен в больших количествах для производственных нужд [33].

## ПРОЦЕССЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ СВЕРХКРИТИЧЕСКИХ ФЛЮИДОВ (СКФ) В КАЧЕСТВЕ АНТИРАСТВОРИТЕЛЯ (МЕТОД SAS)

Технология капсулирования с применением сверхкритических флюидов в качестве антирастворителя (SAS) была предложена для веществ с низкой растворимостью в СКФ. В этом случае находящийся

под давлением  $\text{CO}_2$  играет роль антирастворителя, необходимого для осаждения веществ из их раствора в органическом растворителе. Вещество сначала растворяется в органическом растворителе, затем полученный раствор вводят в СК  $\text{CO}_2$  [34].

Принцип такого процесса основан на способности органических растворителей растворять большое количество различных веществ; взаимной растворимости фазы СКФ и органической фазы; низком сродстве СКФ по отношению к растворенному веществу.  $\text{CO}_2$  диффундирует в органический растворитель, вызывая тем самым его испарение и переход в газовую фазу; степень расширения объема определяет уменьшение плотности среды, которая, в свою очередь понижает растворяющую способность органического растворителя и приводит к выпадению осадка.

В случае получения частиц с использованием сжатого СКФ в качестве антирастворителя (метод SAS рисунок 7) раствор сначала закачивается в автоклав до тех пор, пока не будут достигнуты необходимые фиксированные давление и температура, затем растворенное в органическом растворителе вещество впрыскивается в автоклав, при этом образующиеся частицы собираются на фильтре на дне автоклава.

Для того чтобы улучшить защиту полифенолов от разрушающих факторов, таких как температура, свет и кислород, процесс SAS был применен к осаждению спиртового экстракта листьев розмарина (*Rosmarinus officinalis*) в полксамере. [35] Полксамеры – триблок-сополимеры, состоящие из полиоксиэтилена (POE) и полиоксипропилена (POP) (рисунок 8), широко используются в фармацевтической области из-за их способности образовывать гели в ответ на изменения температуры [36].  $\text{CO}_2$  был использован в качестве критического антирастворителя при умеренных температурах, и инкапсуляция экстракта была успешно достигнута с выходом до 100% частиц в субмикронном диапазоне. Характеристики микрочастиц, получаемых в процессе SAS, зависят от многих параметров процесса: температуры, давления, свойств полимера и др. Важнейшее влияние на характеристики микрочастиц оказывает молекулярная масса полимера, определяющая, в частности, его вязкость.

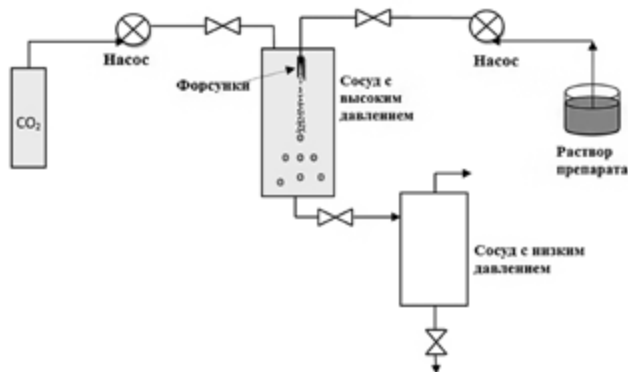


Рисунок 7. Схема процесса SAS

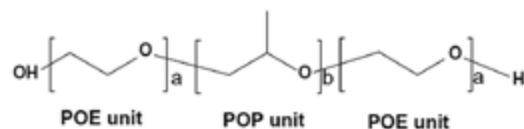


Рисунок 8. Химическая структура полксамера

Полифенолы зеленого чая соосаждались с био-разлагаемым полимером (поли-ε-капролактон) путем полунепрерывного процесса с использованием диоксида углерода в качестве суперкритического антирастворителя. В данном исследовании основное внимание уделялось влиянию различных параметров процесса (давление и температура), соотношению концентрации полимера и раствора, соотношению  $\text{CO}_2$  и скорости потока раствора. Содержание полифенолов составляло от 60 до 100% по отношению к максимальной теоретической величине, микрочастицы (3–5 μm) имели однородный размер. В большинстве экспериментов были получены сферические частицы с шероховатой поверхностью, тогда в эксперименте с низкими концентрациями полимеров были получены частицы с плоскими формами из-за осаждения экстракта на их поверхности [23].

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИНКАПСУЛИРОВАНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ

### Коацервация

Коацервация основана на разделении водного полимерного раствора двух жидких фаз: плотной коацерватной фазы и разбавленной равновесной фазы, с последующим осаждением плотного коацервата вокруг активного компонента суспензии или эмульсии в той же реакционной среде [37]. Процесс коацервации включает в себя три основных этапа:

1. Формирование эмульсии типа «масло в воде», в которой маслянистые капельки основного вещества диспергируют в водном полимерном растворе;
2. Формирование покрытия, вызванного изменением в водной фазе;
3. Стабилизация покрытия путем термической обработки, десольвации.

Этот метод инкапсуляции позволяет формировать сферические формы и добиться улучшения стабильности полифенолов.

Антоцианы смородины были введены в глюкан (термообратимый желирующий агент) путем простого смешивания с горячим дисперсным гелем глюкана с последующим охлаждением [38]. Во время охлаждения раствора глюкана в воде с 80 °C до комнатной температуры антоцианы захватываются сетевой структурой полисахаридов. Восстановления 73–79%

инкапсулированных антоцианов в первоначальную форму можно достигнуть с помощью обычного сушильного шкафа путем испарения гелевой матрицы. Это исследование показало, что инкапсуляция антоцианов с использованием природных полимеров может повысить стабильность соединений этого класса.

В другом исследовании лиофилизированные экстракты падуба парагвайского (*Ilex paraguariensis*), содержащие  $62,11 \pm 1,16$  мг/г галловой кислоты, были инкапсулированы с использованием двух подходов: ионного гелеобразования с альгинатом кальция и коацервации с альгинатом кальция и хитозаном (сополимер N-ацетил-D-глюкозамин и D-глюкозамин, полученный путем N-деацетилирования хитина в щелочной среде) [39]. Хитозан характеризуется несколькими полярными функциональными группами, такими как -ОН и -NH<sub>2</sub>, в то время как альгинат содержит группы карбоновых кислот. Таким образом, они могут вступать в реакцию коацервации в связи с их противоположными зарядами. Были подготовлены капельки альгината кальция с хитозановым слоем и без хитозанового слоя, для того, чтобы оценить влияние инкапсулирующей системы на механические свойства гранул и исследовать их влияние на стабильность полифенолов в готовом продукте. Получили 85% полифенолов в альгинатных каплях, количество капель с хитозановым покрытием было ниже, около 50%. Тем самым выявлены потери полифенольных соединений при покрытии из хитозана. Максимальное высвобождение в воде за более короткое время достигнуто при хитозановом покрытии. Эти результаты подтверждают влияние покрывающих материалов готового продукта на сохранность природных антиоксидантов.

## МЕТОД ИОННОГО ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ

Метод ионного гелеобразования представляет собой физико-химический процесс, включающий экстрагирование полимерного водного раствора, в котором активное соединение находится в растворенном или диспергированном состоянии. Капельки в фазе диспергируются и трансформируются в сферические частицы. Это происходит после процесса взаимодействия между хелатными комплексами с поливалентными ионами в геле [40].

При исследовании полифенолов чая капсулировали хитозан в наночастицы, синтезированные методом ионного гелеобразования, используя карбоксиметилхитозан и гидрохлорид хитозана (карбоксиметилхитозан и хитозана гидрохлорид – две разные водорастворимые производные хитозана с анионными и катионными свойствами соответственно). Наночастицы образуются в результате ионного процесса гелеобразования между карбоксильными группами карбоксиметилхитозана и аминогруппами хитозана гидрохлорида [41]. Полученные наночастицы не

были сферической формы, средний размер составлял  $407 \pm 50$  нм, содержание активного вещества и процент инкапсулирования составили 8–16% и 44–83% соответственно.

## Эмульсии

Эмульсия включает в себя две несмешивающихся фазы (масло и вода), при этом одна из них диспергирована в виде мелких капель в другой [42]. Эмульсии можно разделить на два основных класса в зависимости от природы дисперсной фазы: «масло в воде», в которой капли масла диспергируют в водной фазе; и вода в масле, в которой вода образует дисперсную фазу, а масло – дисперсионная среда (рисунок 9). Для того чтобы получить стабильную эмульсию, в систему добавляют эмульгаторы или модификаторы текстуры. Такой подход может быть успешно использован для того, чтобы инкапсулировать растительные фенолы и полифенолы в эмульсию (в жидкой форме или высушенной после процесса эмульгирования для получения порошков.)

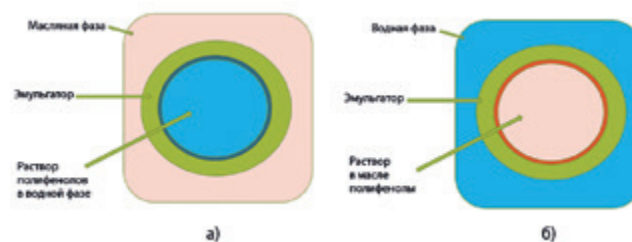


Рисунок 9. Схематическое изображение эмульсий типа «вода в масле» (W/O) – а, «масло в воде» (O/W) – б

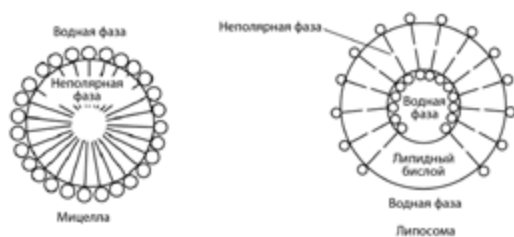
Полифенолы, экстрагированные из виноградного сырья, были инкапсулированы в наноэмульсию, приготовленную с использованием подсолнечного или пальмового масла в качестве жидкой и твердой липидной фазы, а также в комбинации с гидрофильными и гидрофобными эмульгаторами с целью улучшения водо- и жирорастворимости этих соединений [43]. Наноэмульсию получали гомогенизацией под высоким давлением, физико-химическая стабильность изучалась ускоренными условиями хранения при различных температурах (4 °C, 30 °C и 55 °C в течение 14 дней). Результаты показали, что наноэмульсии на основе подсолнечного масла были наиболее физически и химически стабильны, они помогли избежать деградации инкапсулированных молекул, тем самым сохраняя их структурную целостность.

## Везикулы

Мицеллы (рисунок 10) образуются при спонтанной сборке амфифильных полимеров в водном растворе [44], когда концентрация полимера выше критической мицеллярной концентрации (КМК). Структура ядро – оболочка характеризуется сферической фор-

мой, размеры колеблются в диапазоне от 10 до 100 нм. Гидрофобные окончания образуют центральное ядро, в то время как гидрофильные – внешнюю сферу мицеллы. После образования мицелл происходит улучшение стабильности и уменьшение полидисперсности этих структур.

Липосомы (рисунок 10) – искусственно созданные везикулы, состоящие из одного или более липидных бислоев, разделенных водными фазами. Классифицировать липосомы можно по числу ламелей (слоев), которые связываются в однослойные везикулы различных размеров и крупные многослойные везикулы, или мультивезикулярные везикулы (МВВ) [26]. Разработано много методов для получения липосом, один из них – гидратация сухих фосфолипидных пленок.



**Рисунок 10.** Структурная схема мицелл и липосом

Изучалось влияние мицелл и липосом на химическую стабильность пяти полифенолов [45]. Катехингаллат, катехин, эпикатехин, эпигаллокатехина галлат и эпигаллокатехин были изготовлены в трех различных видах: молекулярный раствор, мицеллярный раствор (использовался Твин-20), липосомальная дисперсия (с использованием соевого фосфотидилхолина). По сравнению с контрольным раствором наличие мицелл и липосом уменьшило деградацию полифенолов, сохранило их структурную целостность, процесс окисления происходил медленнее по сравнению с раствором, содержащим лецитин. Особенно это было заметно в смесях гидрофобных полициклических фенолов, которые легко растворялись и связывались с мицеллами и бислоями лецитина.

## Полимеризация *in situ*

Полимеризация *in situ* состоит из эмульгирования мономера (в основном винильных и акриловых соединений) в водной фазе, содержащей поверхностно-активное вещество. Происходит полимеризация, что приводит к образованию нерастворимых в воде полимерных микросфер [46].

## Инкапсуляция в циклодекстрины

В настоящее время одной из наиболее важных и быстро прогрессирующих областей применения циклодекстринов и их производных является разработка адресных систем доставки лекарств в организме,

поскольку активные фармацевтические субстанции в молекулярных комплексах с циклодекстринами обладают не только улучшенными фармакокинетическими параметрами, но и приобретают новые полезные свойства, повышающие их биодоступность.

Проводились исследования большого количества малорастворимых в воде полифенолов, заключенных в комплекс с циклодекстринами. Результаты показали хорошую растворимость в воде, а также увеличение антиоксидантной способности. Но в зависимости от вида полифенольного соединения и типа выбранного циклодекстрина растворимость изменялась [47]. Поэтому необходимы более длительные и обширные испытания для подбора подходящего циклодекстрина к тому или иному виду полифенола.

## МЕТОД ВКЛЮЧЕНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ В СФОРМИРОВАННЫЙ ПОЛИМЕР

Полифенолы могут быть включены в полимерную матрицу двумя различными способами: «включением на месте» (*in situ*) и после формирования полимерной матрицы. В первом случае включение в микросферу активного вещества и образование самой микросферы происходят одновременно, а во втором случае сперва формируется матрица из полимера, а уже потом происходит поглощение активного вещества этой матрицы.

С помощью такого подхода в полимерные наночастицы (NanoCurct), состоящие из N-изпропил-акриламида, винилпирролидона и акриловой кислоты, был включен куркумин [48]. Наночастицы были получены свободнорадикальной полимеризацией при 30 °С в атмосфере азота в течение 24 часов. Аммония персульфат и сульфат железа были использованы в качестве инициатора и активатора соответственно. После полной полимеризации водный раствор полимера очищали с помощью диализа, а частицы затем подвергали лиофилизации для последующего включения куркумина. В отличие от обычного куркумина в форме NanoCurct полностью растворим в водной среде, и исследования не показали его токсичности при введении животным.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полифенолы – биологически активные вещества, оказывающие положительное воздействие на организм человека. Эти природные молекулы характеризуются ограниченной стабильностью и растворимостью, что является следствием их низкой биодоступности. Для того чтобы преодолеть эти недостатки, разрабатываются новые перспективные способы стабилизации полифенолов.

В данном обзоре представлены пути обеспечения защиты полифенолов от таких разрушающих фак-



торов, как тепло, свет, pH, окисление, что способствует увеличению стабильности и эффективности препаратов на их основе. Наиболее перспективным способом защиты целостности структуры этих соединений без потери их активности, является инкапсуляция. Выбор материала оболочки микрокапсул имеет важное значение для обеспечения стабильности полифенолов.

Традиционные методы инкапсулирования имеют некоторые ограничения, связанные с использованием органических растворителей и поверхностно-активных веществ, а также с узким диапазоном температур и pH при проведении процессов, что может вызвать риск разрушения полифенолов. Этот комплекс проблем можно решить с помощью использования сверхкритических сред, коацервации, включения биологически активных веществ в циклодекстрины, а также другими способами. Все они в конечном итоге направлены на повышение стабильности и увеличение биодоступности препаратов на их основе.

## ЛИТЕРАТУРЫ

1. J.P. Spencer, M.M. Abd El Mohsen, A.M. Minihane, J.C. Mathers. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research // *Br J Nutr.* 2008. № 99. P. 12.
2. I.R. Redovnikovic, K. Delonga, S. Mazor, V. Dragovic-Uzelac, M. Caric and J. Vorkapic-Furac. Polyphenolic Content and Composition and Antioxidative Activity of Different Cocoa Liquors // *Czech J. Food Sci.* 2009. № 5: 330–337.
3. M. D'Archivio, C. Filesi, R. Di Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, R. Masella. Polyphenols, dietary sources and bioavailability // *Ann Ist super Sanita.* 2007. V. 43, № 4. P. 348.
4. M. Lamprecht. *Antioxidants in Sport Nutrition.* © 2015 by Taylor & Francis Group, LLC, 2015.
5. S. Kuriyama; T. Shimazu; K. Ohmori; N. Kikuchi; N. Nakaya; Y. Nishino; Y. Tsubono; I.Tsuji. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: The Ohsaki study // *JAMA* 2006. № 296. P. 1255–1265.
6. H. Checkoway; K. Powers; T. Smith-Weller; G.M. Franklin; W.T. Longstreth Jr.; P.D. Swanson. Parkinson's disease risks associated with cigarette smoking, alcohol consumption, and caffeine intake // *Am. J. Epidemiol.* 2002. № 155. P. 732–738.
7. T.L. Zern; R.J. Wood; C. Greene; K.L. West; Y. Liu; D. Aggarwal; N.S. Shachter; M.L. Fernandez. Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre- and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress // *J. Nutr.* 2005. № 135. P. 1911–1917.
8. Y.J. Jeong; Y.J. Choi; H.M. Kwon; S.W. Kang; H.S. Park; M. Lee; Y.H. Kang. Differential inhibition of oxidized LDL-induced apoptosis in human endothelial cells treated with different flavonoids // *Br. J. Nutr.* 2005. № 93. P. 581–591.
9. B. Fuhrman; N. Volkova; R. Coleman; M. Aviram. Grape powder polyphenols attenuate atherosclerosis development in apolipoprotein E deficient (E0) mice and reduce macrophage atherogenicity // *J. Nutr.* 2005. № 135. P. 722–728.
10. G.P. Hubbard; S. Wolffram; R. de Vos; A. Bovy; J.M. Gibbins; J.A. Lovegrove. Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: A pilot study // *Br. J. Nutr.* 2006. № 96. P. 482–488.
11. J. Hallund; S. Bugel; T. Tholstrup; M. Ferrari; D. Talbot; W.L. Hall; M.Reimann; C.M. Williams; N. Wiinberg. Soya isoflavone-enriched cereal bars affect markers of endothelial function in postmenopausal women // *Br. J. Nutr.* 2006. № 95. P. 1120–1126.
12. J. Hodgson; K. Croft. Dietary flavonoids: Effects on endothelial function and blood pressure // *J. Sci. Food Agric.* 2006. № 86. P. 2492–2498.
13. M. Balu, P. Sangeetha, D. Haripriya, C. Panneerselvam. Rejuvenation of antioxidant system in central nervous system of aged rats by grape seed extract // *Neurosci Lett* 2005. V. 383(3). P. 295–300.
14. N.G. Baydar, O. Sagdic, G. Ozkan, S. Cetin. Determination of antibacterial effects and total phenolic contents of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts // *Int J Food Sci* 2006. V. 41(7). P. 799.
15. H.J. Jung, I.A. Hwang, W.S. Sung, H. Kang, B.S. Kang, Y.B. Seu, et al. Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi // *Arch Pharm Res* 2005. V. 28(5). P. 557–60.
16. T. de Bruyne, L. Pieters, M. Witvrouw, E. de Clercq, D.V. Berghe, A.J. Vlietinck. Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols // *J Nat Prod* 1999. V. 62(7). P. 954–8.
17. J.H. Chávez, P.C. Leal, R.A. Yunes, R.J. Nunes, C.R.M.Barardi, A.R.Pinto, et al. Evaluation of antiviral activity of phenolic compounds and derivatives against rabies virus. *Vet Microbiol* 2006. V. 116(1-3). P. 53–9.
18. T.S. Hudson, D.K. Hartle, S.D. Hursting, N.P. Nunez, T.T.Y. Wang, H.A. Young, et al. Inhibition of prostate cancer growth by muscadine grape skin extract and resveratrol through distinct mechanisms // *Cancer Res* 2007. V. 67(17). P. 8396–405.
19. M.C. Lazzè, R. Pizzala, F.J.G. Pecharromás, P.G. Garnica, J.M.A. Rodriguez, N. Fabris, et al. Grape waste extract obtained by supercritical fluid extraction contains bioactive antioxidant molecules and induces antiproliferative effects in human colon adenocarcinoma cells // *J Med Food* 2009. V. 12(3). P. 561–8.
20. L. Gamet-Payraastre, S. Manenti, M.P. Gratacap, J. Tulliez, H. Chap, B Payraastre. Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase // *Gen Pharmacol* 1999. V. 32(3). P. 279–86.

21. T. Richard, D. Lefevre, A. Descendit, S. Quideau, J.P. Monti. Recognition characters in peptide-polyphenol complex formation // *Biochim Biophys Acta* 2006. V. 1760(6). P. 951–8.
22. E-Q. Xia, G-F. Deng, Y-J. Guo, H-B. Li. Biological activities of polyphenols from grapes // *Int J Mol Sci* 2010. V. 11(2). P. 622–46.
23. R.R. Watson, V.R. Preedy, Sh. Zibadi. Polyphenols in Human Health and Disease, 1st Edition. Academic Press-Elsevier, 2013, 1427.
24. K.G.H. Desai, H.J. Park. Recent developments in microencapsulation of food ingredients // *Dry Technol* 2005. V. 23(7). P. 1361–94.
25. A. Picot, C. Lacroix. Production of multiphase water-insoluble microcapsules for cell microencapsulation using an emulsification/ spray-drying technology // *J Food Sci* 2003. V. 68(9). P. 2693–700.
26. A. Munin, F. Edwards-Lévy. Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review // *Pharmaceutics* 2011. V. 3(4). P. 793–829.
27. A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel. Applications of spraydrying in microencapsulation of food ingredients: an overview // *Food Res Int.* 2007. V. 40(9). P. 1107–21.
28. B.F. Gibbs, S. Kermash, I. Alli, C.N. Mulligan. Encapsulation in the food industry: a review // *Int J Food Sci Nutr.* 1999. V. 50(3). P. 213–24.
29. M.B. Roberfroid, N.M. Delzenne. Dietary fructans // *Annu. Rev. Nut.r.* 1998. V. 18 P. 117–43.
30. D. Sun-Waterhouse, S.S. Wadhwa, G.I.N. Waterhouse. Spray-drying microencapsulation of polyphenol bioactives: a comparative study using different natural fibre polymers as encapsulants // *Food Bioprocess Technol* 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0946-y> (дата обращения 31.10.2016).
31. D.P. Makris, G. Boskou, N.K. Andrikopoulos. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing // water/ethanol mixtures. *Bioresource Technol.* 2007. V. 98(15). P. 2963–7.
32. A. Munin, F. Edwards-Levy. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds: a Review // *Pharmaceutics*. 2011. V. 3. P. 793–829.
33. P. York, U.B. Kompella, B.Y. Shekunov, [ed.]. *Supercritical fluid technology for drug product development* // New York, Basel: Marcel Dekker, Inc., 2004. PP. 44–53, 504.
34. P.M. Gallagher, M.P. Coffey, V.J. Krukoni, W.W. Hillstrom. Gas Anti-Solvent Recrystallization of RDX; Formation of Ultra-fine Particles of a Difficult-to-Commminute Explosive // *J. of Supercritical Fluids*. 1992. T. 5. P. 130.
35. A. Visentin, S. Rodriguez-Rojo, A. Navarrete, D. Maestri, M.J. Cocero. Precipitation and encapsulation of rosemary antioxidants by supercritical antisolvent process // *J Food Eng.* 2012. V. 109(1). P. 9–15.
36. J.J. Escobar-Chavez, M. Lopez-Cervantes, A. Naik, Y.N. Kalia, D. Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar. Applications of thermoreversible Pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations // *J Pharm Pharmaceut Sci.* 2006. V. 9(3). P. 339–58.
37. S. Gouin. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends // *Trends Food Sci Tech.* 2004. V. 15(7-8). P. 330–347.
38. S. Xiong, L.D. Melton, A.J. Easteal, D. Siew. Stability and antioxidant activity of black currant anthocyanins in solution and encapsulated in glucon gel // *J Agric Food Chem.* 2006. V. 54(17). P. 6201–8.
39. L. Deladino, P.S. Anbinder, A.S. Navarro, M.N. Martino. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis* // *Carbohydr Polym.* 2008. V. 71(1). P. 126–34.
40. T.F. Vandamme, D. Poncelet, P. Subra-Paternault. *Microencapsulation: des Sciences aux Technologies.* – Paris: Lavoisier Tec & Doc, 2007.
41. J. Liang, F. Li, Y. Fang, W. Yang, X. An, L. Zhao, et al. Synthesis, characterization and cytotoxicity studies of chitosan-coated tea polyphenols nanoparticles // *Coll Surf B Biointerf.* 2011. V. 82 (2). P. 297–301.
42. S. Friberg, K. Larsson, J. Sjoblom. *Food Emulsions.* 4th ed. – New York: Marcel Dekker, 2004.
43. M. Sessa, A.A. Casazza, P. Perego, R. Tsao, G. Ferrari, F. Donsi. Exploitation of polyphenolic extracts from grape marc as natural antioxidants by encapsulation in lipid-based nanodelivery systems // *Food Bioprocess Technol* 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-012-0911-9> (дата обращения 31.10.2016).
44. E. Cabane, X. Zhang, K. Langowska, CG. Palivan, W. Meier. Stimuli-responsive polymers and their applications in nanomedicine // *Biointerphases.* 2012. V. 7(1-4). P. 1–27.
45. I.C. Chis, M.I. Ungureanu, A. Marton, R. Simescu, A. Muresan, I.D. Postescu, et al. Antioxidant effects of a grape seed extract in a rat model of diabetes mellitus // *Diab Vasc Dis Res.* 2009. V. 6 (3). P. 200-2-004.
46. T.F. Vandamme, D. Poncelet, P. Subra-Paternault. *Microencapsulation: des Sciences aux Technologies.* – Paris: Lavoisier Tec & Doc, 2007.
47. М.С. Сокуренок, Н.Л. Соловьёва, С.П. Кречетов, С.А. Бруновленский-Богоявленский. Использование циклодекстринов с целью повышения биодоступности полифенольных соединений // *Евразийский союз учёных.* 2016. № 3(24), С. 155–156.
48. S. Bisht, M.A. Khan, M. Bekhit, H. Bai, T. Cornish, M. Mizuma, et al. A polymeric nanoparticle formulation of curcumin (NanoCurct) ameliorates CCl4-induced hepatic injury and fibrosis through reduction of pro-inflammatory cytokines and stellate cell activation // *Lab Invest.* 2011. V. 91(9). P. 1383–95.