

УДК 615.03: 544.032.2

## МЕХАНОХИМИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ФЛАВОНОИДОВ – ГЕНИСТЕИНА, ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА, РУТИНА

Сунцова Л.П., Метелева Е.С., Душкин А.В.

*Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,  
Новосибирск, e-mail: dushkin@solid.nsk.su*

Механохимическим путем получены твердые дисперсии малорастворимых биофлавоноидов – генистеина, дигидрокверцетина, рутина – с карбонатами металлов и с природным полисахаридом арабиногалактаном. Исследованы физико-химические свойства полученных твердых дисперсий. Методом электронной микроскопии показано, что в результате механической обработки происходит измельчение частиц исходных компонентов и образование их композитных агрегатов. На основании полученных термограмм и рентгенограмм было выявлено, что в обработанных смесях происходит частичная потеря кристалличности твердых фаз флавоноидов, что способствует ускорению перевода флавоноидов в растворенное состояние. Полученные твердые дисперсии обладают повышенной (до 10–100 раз) водорастворимостью флавоноидов по сравнению с растворимостью исходных субстанций флавоноидов. При этом повышение водорастворимости за счет кислотных свойств биофлавоноидов значительно превышает аналогичные показатели по сравнению с образованием межмолекулярных комплексов с АГ. Полученные результаты открывают перспективы создания лекарственных средств и биологически активных добавок повышенной эффективности.

**Ключевые слова:** флавоноиды, генистеин, дигидрокверцетин, рутин, механохимия, твердые дисперсии, арабиногалактан, водорастворимые соли

## MECHANOCHEMICAL OBTAINING WATERSOLUBLE COMPOSITIONS BASED ON FLAVONOIDS

Suntsova L.P., Meteleva E.S., Dushkin A.V.

*Institute of Solid State chemistry and Mechanochemistry SB RAS,  
Novosibirsk, e-mail: dushkin@solid.nsk.su*

Solid dispersion of poorly soluble bioflavonoids – genistein, dihydroquercetin, routine – with carbonates of metals and natural polysaccharide arabinogalactan were obtained mechanochemically. The physico-chemical properties of the resulting solid dispersions were studied, too. It was shown by electron microscopy that the mechanical treatment reduces the size of the particles of the initial components and promoted the formation of their composite aggregates. Obtained thermograms and X-ray analysis show a partial loss of crystallinity of the solid phase of flavonoids, which accelerates transfer of flavonoids in the dissolved state. The obtained solid dispersion have increased (up to 10–100 times) the solubility of flavonoids. However, increasing the water solubility due to the acidic properties of bioflavonoids is much higher than compared with the formation of intermolecular complexes with AG. The results open opportunities for development of new medicines and nutrients with enhanced efficiency.

**Keywords:** flavonoids, genistein, dihydroquercetin, taxifolin, rutin, mechanochemistry, solid dispersions, arabinogalactan, water soluble salts

Флавоноиды относятся к числу широко распространенных растительных метаболитов, для которых характерно структурное многообразие, высокая разносторонняя биологическая активность и малая токсичность. Направление биологического действия флавоноидов связано с физико-химическими свойствами многообразия их структур [4, 5]. Большое значение придается противовоспалительному действию флавоноидов, с которым, вероятно, связано их противовоспалительное, ранозаживляющее и жаропонижающее действие.

Существенным недостатком флавоноидов, снижающим эффективность препаратов на их основе, является их низкая водорастворимость, таким образом, представляет интерес разработка новых лекарственных средств и БАД, обладающих повышенной растворимостью флавоноидов [3, 1, 2].

**Целью настоящей работы** являлось механохимическое получение и исследование свойств фармацевтических твердых дисперсий/композиций на основе флавоноидов генистеина, дигидрокверцетина, рутина, обладающих повышенной водорастворимостью.

В полученных твердых дисперсиях увеличение растворимости достигалось за счет ионизации молекул флавоноидов, имеющих полифенольную (кислотную) природу, а также путем образования водорастворимых комплексов включения с полисахаридом арабиногалактаном (АГ) по типу «гость-хозяин».

### Материалы и методы исследования

Для работы выбраны следующие флавоноиды и вспомогательные вещества:

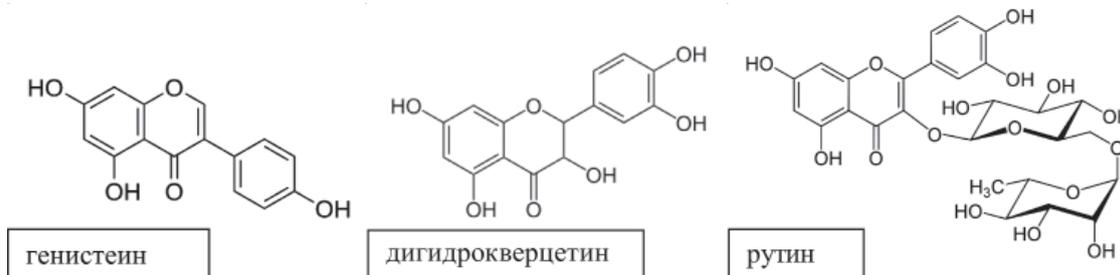
1. Генистеин – 5,7-дигидрокси-3-(4-гидроксифенил)хромен-4-он, субстанция флавоноида генистеина. Брутто-формула  $C_{15}H_{10}O_5$ . Получен от Sigma-Aldrich.

2. Дигидрокверцетин (ДГК) – 3,3',4,5,7-пентагидроксифлавоон, субстанция флавоноида дигидрокверцетина, производство ООО ИНПФ «Химия древесины» (Иркутск); серия 9022007. Брутто-формула  $C_{15}H_{12}O_7$ .

3. Рутин – 2-(3,4-дигидроксифенил)-5,7-дигидрокси-3-[ $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-глю-

копиранозилокси]-4Н-хромен-4-он, субстанция флавоноида рутина, производство Мерк С.А. (Бразилия); серия MM09-9020. Брутто-формула  $C_{27}H_{30}O_{16}$ .

Структурные формулы флавоноидов приведены ниже.



4. Полисахарид арабиногалактан (Фибролар С) из древесины лиственниц сибирской и Гмелина – аморфный порошок светло-кремового цвета, производство ООО «Химия древесины» (Иркутск), полученный по методу, описанному в работе [6], ТУ 9363-021-39094141-08; серия 02042013. Молекулярная масса – 17,3 кДа [8].

5. Субстанции основного карбоната магния (ФСП 42-3989-08) и осажденного карбоната кальция фармакопейной чистоты (ФСП 42-0550-7545-06).

**Механическая обработка.** Композиции флавоноидов со вспомогательными веществами получали путем механической обработки смесей порошков на ротационной шаровой мельнице VM-1 в течение 4 часов. Объем барабана 300 мл, 15 стальных шаров  $d = 22$  мм и  $m = 44,3$  г, загрузка сырья 20 г, ускорение мелющих тел 1g, скорость вращения барабана 157 об/мин. Образцы представляют собой тонко измельченные порошки с характерной для каждого флавоноида окраской.

**Определение растворимости флавоноидов.** Полученные порошкообразные композиции растворялись в 5 мл дистиллированной воды при  $+25^\circ\text{C}$  при перемешивании 150 об/мин в течение 30 мин. Навеска образца соответствовала массе, необходимой для достижения расчетной концентрации флавоноида 10 г/л. Затем надосадочную жидкость центрифугировали и фильтровали через бумажный фильтр до получения прозрачного раствора. Отобранную аликвоту  $1\text{ см}^3$  разбавляли дистиллированной водой до  $25\text{ см}^3$ . Концентрацию флавоноидов определяли методом ВЭЖХ относительно их специально приготовленных стандартных спиртовых растворов. Анализ ВЭЖХ проводили на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18,  $4,6 \times 150$  мм. Температура колонки –  $30^\circ\text{C}$ ; диодно-матричный УФ-детектор. В качестве элюента использовалась система ацетатный буфер – ацетонитрил (соотношение 55:45 для генистеина, 70:30 для дигидрокверцетина, 80:20 для рутина). Детектирование проводилось в диапазоне длин волн 260–291 нм.

**Рентгенофазовый и термический анализ.** Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов выполняли на дифрактометре ДРОН-3 с использованием  $\text{CuK}\alpha$ -излучения, скорость вращения счетчика 2 град/мин,  $I = 1000$ .

Термический анализ проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью прибора DSC-550 (Instrument Specialists Inc.) в атмосфере аргона. Температурная программа:  $+20$  –  $+250^\circ\text{C}$ , скорость нагрева  $10^\circ\text{C}/\text{мин}$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Твердые дисперсии флавоноидов, включающие карбонаты кальция и магния.

На рис. 1 представлены электронные микрофотографии порошков флавоноидов и их композиций с основным карбонатом магния, механическая обработка композиций – 4 часа.

Из полученных микрофотографий следует, что при механической обработке происходит измельчение частиц исходных компонентов и образование их композитных агрегатов, что согласно ранее проведенным исследованиям [3] способствует быстрому взаимодействию компонентов при гидратации.

Результаты РФА и ДСК приведены на рис. 2. Во всех случаях в необработанных смесях присутствуют характерные для кристаллических фаз флавоноидов рефлексы рентгенограмм и фазовый переход плавления. В механохимически обработанных смесях происходит уменьшение теплот плавления и интенсивностей рефлексов РФА, этот эффект позволяет предположить, что в результате механической обработки происходит частичная потеря кристалличности твердых фаз флавоноидов.

Изменение фазового состояния флавоноидов в результате механической обработки также способствует ускорению перевода флавоноидов в растворенное состояние.

При растворении в воде твердых дисперсий с карбонатами металлов наблюдается значительное повышение растворимости флавоноидов по сравнению с насыщенными растворами субстанций флавоноидов (табл. 1). Это связано с тем, что исследуемые флавоноиды являются полифенольными соединениями, обладающими кислотными свойствами. Однако они, как правило, не образуют твердых фаз солей с ионами металлов, следовательно, невозможно их выделение и использование в виде

индивидуальных биоактивных веществ. Тем не менее в щелочных диапазонах pH молекулы флавоноидов способны к ионизации, а ионизованная форма, как правило, имеет более высокую водорастворимость. Таким образом, смещая равновесие в сто-

рону ионизованных молекул путем использования субстанций карбонатов кальция и магния, мы повышаем общую концентрацию флавоноидов в растворе [3].

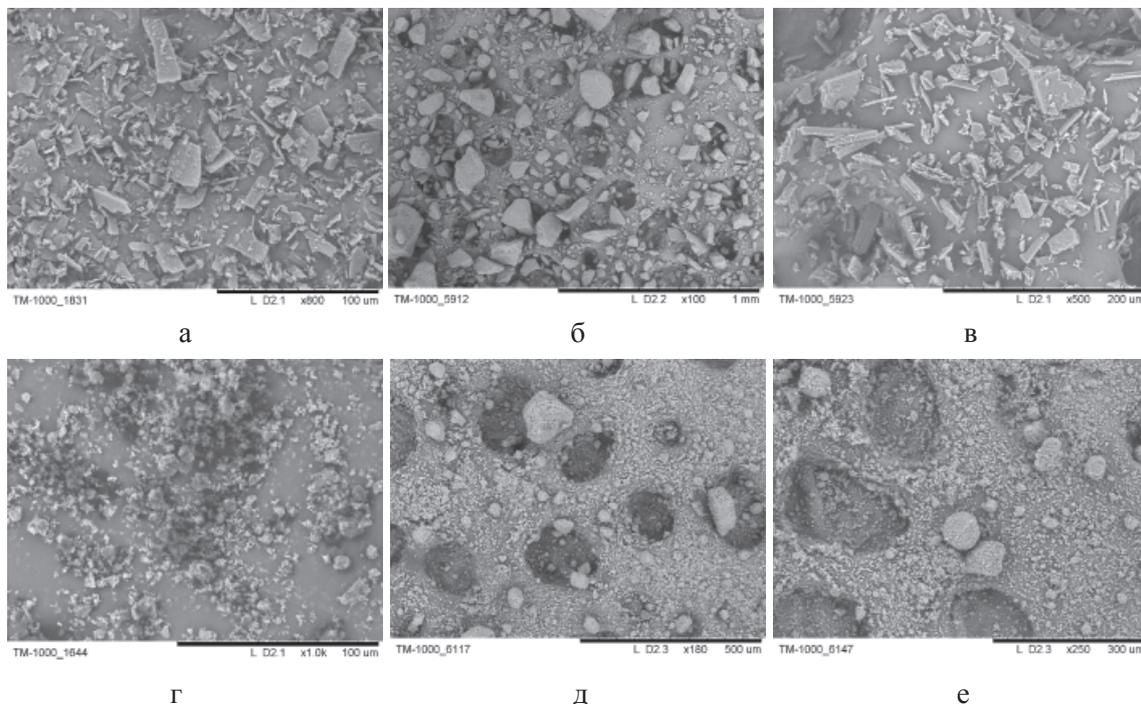
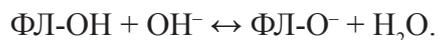


Рис. 1. Микрофотографии порошков генистеина (а), рутина (б), ДГК (в) и твердых дисперсий состава: генистеин – магния карбонат (2:1) (г), рутин – магния карбонат (3:1) (д), ДГК – магния карбонат (2:1) (е)

Таблица 1

Показатели растворимости флавоноидов из их механохимически полученных твердых дисперсий с карбонатами кальция и магния

Вещество/композиция (массовые отношения)	Растворимость флавоноида, г/л	Увеличение растворимости, разы	pH раствора композиции
Рутин	0,065		
Рутин + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (3:1)	2,2	33,8	8,4
Рутин + CaCO <sub>3</sub> (3:2)	0,53	8,2	8,0
Дигидрокверцетин (ДГК)	1,47		
ДГК + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (2:1)	22,5	15,3	7,5
ДГК + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (1:1)	17,8	12,1	7,7
ДГК + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (1:2)	16,3	11,1	7,6
ДГК + CaCO <sub>3</sub> (2:1)	4,5	3,1	7,1
ДГК + CaCO <sub>3</sub> (1:1)	5,0	3,4	7,0
ДГК + CaCO <sub>3</sub> (1:2)	6,0	4,1	7,3
Генистеин	0,008		
Генистеин + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (2:1)	0,81	101,3	9,1
Генистеин + MgCO <sub>3</sub> (осн.) (1:1)	0,69	86,3	9,2

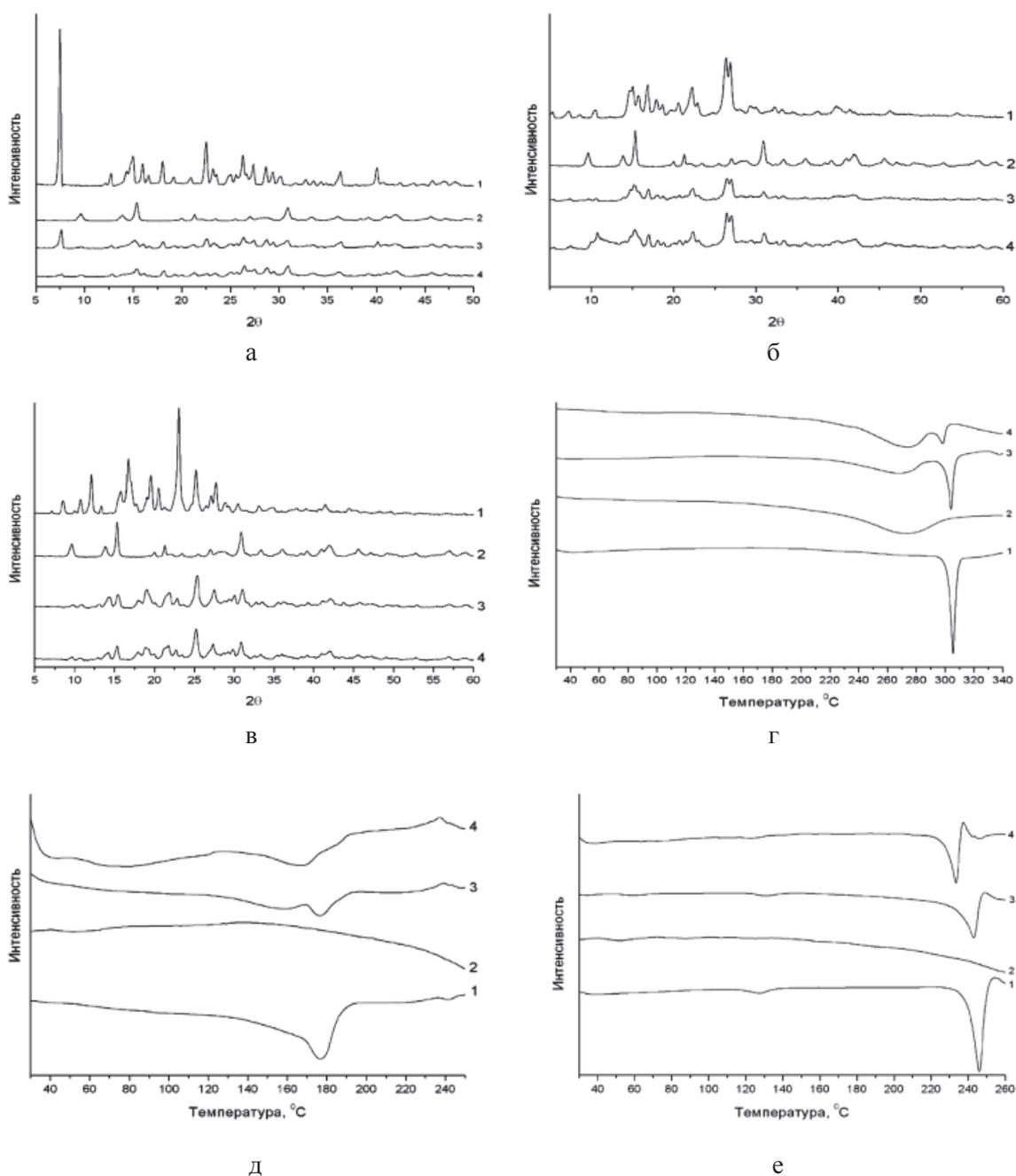


Рис. 2. Рентгенограммы (а, б, в) и термограммы ДСК (г, д, е) исходных флавоноидов (1): генистеина (а, г), рутина (б, д), дигидрокверцетина (в, е);  $MgCO_3$  (2), а также смеси флавоноидов и  $MgCO_3$  до (3) и после (4) механической обработки в течение 4 часов в шаровой валковой мельнице. Состав смесей: генистеин –  $MgCO_3$  (2:1), рутин –  $MgCO_3$  (3:1), дигидрокверцетин –  $MgCO_3$  (2:1)

Как видно из данных табл. 1, увеличение растворимости зависит от природы карбоната металла – более щелочной карбонат магния является более эффективным. Также растворимость зависит от соотношения флавоноида с карбонатом в композиции, но менее, чем от природы карбоната.

#### Твердые дисперсии флавоноидов, включающие полисахарид арабиногалактан

Для получения комплексов включения в качестве комплексообразователя использовался АГ – полисахаридный метаболит древесины лиственницы сибирской

и лиственницы Гмелина. Макромолекула АГ имеет высоко разветвленное строение. Эта особенность, по нашему мнению, способствует образованию прочных межмолекулярных комплексов действующих веществ, молекулы которых вероятнее всего, могут связываться меж-

молекулярными водородными связями в пространстве, образованном боковыми цепями [7].

На рис. 3 представлены электронные микрофотографии порошков композиций флавоноидов с АГ, механическая обработка композиций – 4 часа.

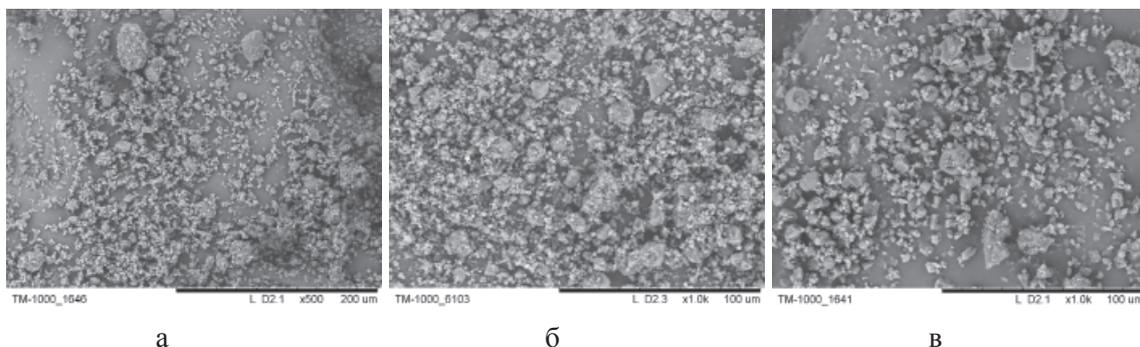


Рис. 3. Микрофотографии порошков твердых дисперсий состава: генистеин – АГ (1:10) (а), рутин – АГ (1:10) (б), ДГК – АГ (1:10) (в)

Результаты РФА и ДСК приведены на рис. 4. В образцах состава флавоноид-АГ невозможно достоверно выделить пик, со-

ответствующий плавлению флавоноида, вероятно, вследствие термического разложения АГ.

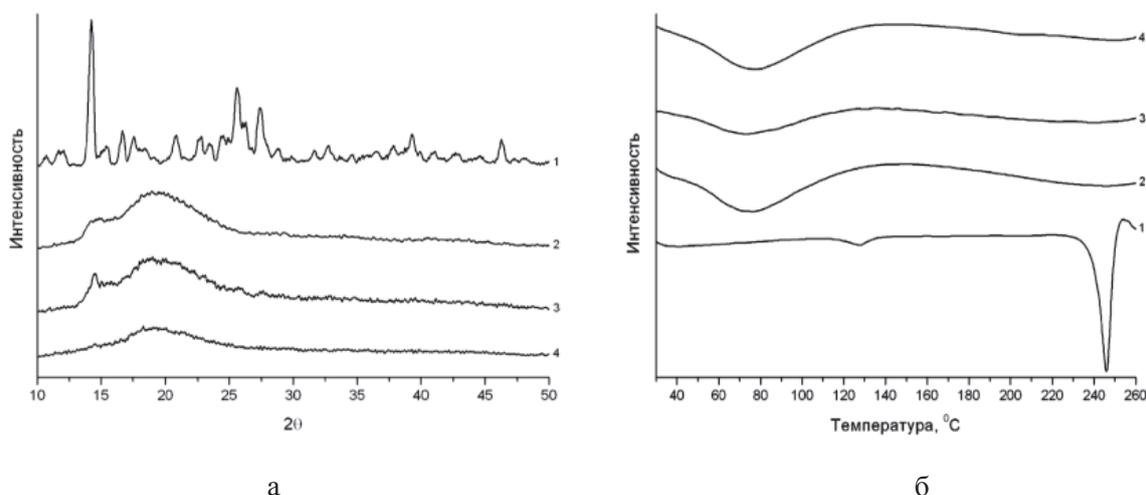


Рис. 4. Рентгенограммы (а) и термограммы ДСК (б) исходного ДГК (1), АГ (2), а также смеси ДГК и АГ (1:10) до (3) и после (4) механической обработки в течение 4 часов в шаровой валковой мельнице

В результате механической обработки флавоноидов с АГ, наряду с нарушением кристаллической структуры флавоноидов, вероятно, происходило диспергирование их молекул в матрицу водорастворимого полисахарида, что также способствовало их ускоренному высвобождению в раствор

и образованию межмолекулярных комплексов при гидратации. Данные по изменению растворимости флавоноидов из смесей с АГ приведены в табл. 2. Во всех исследованных случаях имеет место повышение растворимости флавоноидов, которое, однако, меньше значений, приведенных в табл. 1.

**Таблица 2**

Показатели растворимости флавоноидов из их механохимически полученных твердых дисперсий с арабиногалактаном

Вещество/композиция (массовое отношение)	Растворимость вещества/композиции, г/л	Увеличение растворимости в <i>n</i> раз
Рутин	0,065	
Рутин + АГ (1:10)	0,07	1,1
Рутин + АГ (1:20)	0,09	1,4
Дигидрокверцетин (ДГК)	1,47	
ДГК + АГ (1:10)	> 4,16	2,2–2,8
ДГК + АГ (1:20)	> 4,01	
Генистеин	0,008	
Генистеин + АГ (1:10)	0,074	9,3

**Выводы**

Рассмотрены получение и свойства твердых дисперсий флавоноидов и вспомогательных веществ, способствующих повышению их водорастворимости. Проведенные исследования образцов продемонстрировали во всех случаях значительное (до ~ 10–100 раз) увеличение растворимости флавоноидов в механохимически полученных образцах по сравнению с растворимостью исходных субстанций флавоноидов. Показано, что повышение водорастворимости за счет кислотных свойств биофлавоноидов значительно превышает аналогичные показатели по сравнению с образованием межмолекулярных комплексов с АГ.

Полученные результаты открывают перспективы создания лекарственных средств и биологически активных добавок повышенной эффективности.

*Работа выполнена при поддержке проекта V.48.1. программы фундаментальных исследований государственных академий наук.*

**Список литературы**

1. Душкин А.В., Гуськов С.А., Тихонов В.П., Колесник Ю.А., Родина И.А., Белянкина Е.Ю., Шевченко Т.В. Композиция, обладающая капилляропротективной активностью на основе дигидрокверцетина, и способ ее получения // Патент России № 2451517.2012.
2. Душкин А.В., Метелева Е.С., Тихонов В.П., Бабкин В.А., Колесник Ю. А., Родина И. А., Белянкина Е.Ю., Шевченко Т.В. Композиция с повышенной фармакологической активностью на основе дигидрокверцетина и растительных полисахаридов (варианты) // Патент России № 2421215.2011.
3. Душкин А.В., Сунцова Л.П., Халиков, С.С. Механохимическая технология для повышения растворимости лекарственных веществ // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 1. – С. 448–457.
4. Кабиев О.К. Природные фенолы – перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений / О.К. Кабиев, С.Б. Балмуханов. – М.: Медицина, 1975. – 188 с.
5. Корулькин Д.Ю. / Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музыкалина, Г.А. Толстиков. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. – 232 с.

6. Медведева Е.Н., Бабкин В.А., Макаренко О.А., Николаев С.М., Хобракова В.Б., Шулунова А.М., Федорова Т.Е., Еськова Л.А. // Химия раст. сырья. – 2004. – № 4. – С. 17.

7. Поляков Н.Э., Сыдыков Б.С., Лёшина Т.В., Метелева Е.С., Душкин А.В. // Структура и динамика молекулярных систем. – 2007. – № 1. – С. 507–512.

8. Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A. // The Complex World of Polysaccharides. – 2012. – DOI: 10.5772/48182. – P. 573–602.

**References**

1. Dushkin A.V., Guskov S.A., Tikhonov V.P., Kolesnik Yu.A., Rodina I.A., Belyankina E.Yu., Shevchenko T.V. Kompozitsiya, obladayuschaya kapillyaroprotektivnoy aktivnostyu na osnove digidrokvertsetina, i sposob ee polucheniya. Russia patent 2451517. 2012.
2. Dushkin A.V., Metelva E.S., Tikhonov V.P., Babkin V.A., Kolesnik Yu.A., Rodina I.A., Belyankina E.Yu., Shevchenko T.V. Kompozitsiya s povyshennoy farmakologicheskoy aktivnostyu na osnove digidrokvertsetina i rastitelnykh polisakhari-dov (varianty). Russia patent 2421215.2011.
3. Dushkin A.V., Sunsova L.P., Khalikov S.S. Fundamentalnye issledovaniya, 2013, no. 1, pp. 448–457.
4. Kabiev O.K., Balmukhanov S.B., *Prirodnye fenoly – perspektivnyy klass protivopukhlevykh i radiopotentitsiiruyuschikh soedineniy* [Natural phenols – a promising class of anticancer and radiopotential compounds]. Moscow, Meditsina, 1975. 188 p.
5. Korulkin D.Yu., Abilov Zh.A., Muzychkina R.A., Tolstikov G.A. *Prirodnye flavonoidy* [Natural flavonoids]. Novosibirsk, Akademicheskoe izd-vo «Geo», 2007. 232 p.
6. Medvedeva E.N., Babkin V.A., Makarenko O.A., Nikolaev S.M., Khobrakova V.B., Shulunova A.M., Fedorova T.E., Eskova L.A. *Khimiya rast. syrya*, 2004, no. 4, 17p.
7. Polyakov N.E., Sydykov B.S., Lyoshina T.V., Metelva E.S., Dushkin A.V. *Struktura i dinamika molekulyarnykh sistem*, 2007, no. 1, pp. 507–512.
8. Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A., *The Complex World of Polysaccharides*, 2012, DOI: 10.5772/48182. pp. 573–602.

**Рецензенты:**

Поляков Н.Э., д.х.н., вед. научн. сотрудник Института химической кинетики и горения СО РАН, г. Новосибирск;

Толстикова Т.Г., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией фармакологических исследований Новосибирского института органической химии СО РАН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 18.11.2014.