

## ОЦЕНКА РАСТВОРИМОСТИ БИОАКТИВНЫХ МИНОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ

**И.В. Калинина**, *kalininaiv@susu.ru*  
**Н.В. Попова**, *nvporova@susu.ru*  
**Р.И. Фаткуллин**, *5792687@mail.ru*  
**Е.Е. Науменко**, *9193122375@mail.ru*  
**А.К. Васильев**, *mbz2018vak72@susu.ru*

*Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия*

**Аннотация.** Целью настоящего исследования стала оценка термодинамической растворимости минорных биологически активных компонентов полифенольной природы. Полифенолы представлены огромным числом биологически активных веществ, относящихся к классам танинов, фенольных кислот, стильбенов, флавоноидов и другим. Значительная часть этих соединений проявляет выраженные фармакологические эффекты, в том числе противовоспалительный, антиоксидантный, антилипидемический, антигипергликемический и противораковый. Вместе с тем, низкая растворимость многих из этих соединений является барьерным фактором проявления их физиологического действия в системах организма человека. По этой причине исследование свойств растворимости минорных биологически активных компонентов полифенольной природы лежит в основе прогностической оценки их фармакологических свойств в целом. Особый интерес представляет сопоставительный анализ структуры биологически активных веществ, относящихся к разным классам полифенолов со свойствами их растворимости. В рамках настоящего исследования в качестве объектов были выбраны представители флавоноидов и стильбенов. Была проведена оценка их растворимости в дистиллированной воде при разных значениях температуры (20, 35 и 50 °С) и продолжительности процесса растворения (20, 40 и 60 мин). Установлено, что несмотря на принадлежность к разным классам полифенолов исследуемые биологически активные вещества характеризуются выраженной гидрофобностью, самые высокие значения растворимости не превышали 2 %. Определены некоторые зависимости между структурой молекул веществ и их растворимостью. На основании двухфакторного регрессионного анализа получены математические модели, описывающие процесс растворения полифенолов в зависимости от температуры растворителя и продолжительности растворения. Установлено оптимальное сочетание этих факторов для каждого из веществ. Полученные результаты указывают на необходимость поиска путей повышения растворимости исследуемых соединений, а также развитие исследований, в том числе за счет использования других типов растворителей.

**Ключевые слова:** полифенолы, биоактивные минорные соединения, структура молекул, растворимость

**Благодарности:** Статья выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 22-26-00097.

**Для цитирования:** Оценка растворимости биоактивных минорных соединений полифенольной природы / И.В. Калинина, Н.В. Попова, Р.И. Фаткуллин и др. // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2022. Т. 10, № 1. С. 98–106. DOI: 10.14529/food220111

Original article  
DOI: 10.14529/food220111

## ASSESSMENT OF SOLUBILITY OF BIOACTIVE MINOR COMPOUNDS OF POLYPHENOLIC NATURE

*I.V. Kalinina, kalininaiv@susu.ru*

*N.V. Popova, nvpopova@susu.ru*

*R.I. Fatkullin, 5792687@mail.ru*

*E.E. Naumenko, 9193122375@mail.ru*

*A.K. Vasiliev, mbz2018vak72@susu.ru*

*South Ural State University, Chelyabinsk, Russia*

**Abstract.** The aim of the present study was to assess the thermodynamic solubility of minor bioactive compounds of polyphenolic nature. Polyphenols are represented by a huge number of biologically active substances belonging to classes of tannins, phenolic acids, stilbenes, flavonoids and others. A large proportion of these compounds exhibit pronounced pharmacological effects, including anti-inflammatory, antioxidant, antilipidemic, antihyperglycemic and anticancer effects. At the same time, the low solubility of many of these compounds is a barrier to the manifestation of their physiological effects in human systems. For this reason, the study of solubility properties of minor biologically active compounds of polyphenol nature is the basis for the prognostic evaluation of their pharmacological properties in general. Of particular interest is the comparative analysis of the structure of biologically active substances belonging to different classes of polyphenols with their solubility properties. For the present study, representatives of flavonoids and stilbenes were chosen as objects. Their solubility in distilled water at different temperatures (20, 35 and 50 °C) and dissolution times (20, 40 and 60 min) were evaluated. It was found that despite belonging to different classes of polyphenols, the biologically active substances under study were characterized by marked hydrophobicity, the highest solubility values not exceeding 2 %. Some correlations between the structure of the substances molecules and their solubility were determined. Mathematical models describing dissolution process of polyphenols depending on solvent temperature and dissolution time were obtained by two-factor regression analysis. The optimum combination of these factors for each substance has been established. The results obtained point to the need to search for ways to increase the solubility of the studied compounds, as well as to develop research, including the use of other types of solvents.

**Keywords:** polyphenols, bioactive minor compounds, molecular structure, solubility

**Acknowledgments.** This work has been supported by the grants the Russian Science Foundation, RSF 22-26-00097.

**For citation:** Kalinina I.V., Popova N.V., Fatkullin R.I., Naumenko E.E., Vasiliev A.K. Assessment of solubility of bioactive minor compounds of polyphenolic nature. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2022, vol. 10, no. 1, pp. 98–106. (In Russ.) DOI: 10.14529/food220111

### Введение

Растворимость является одним из важнейших физико-химических свойств биоактивных соединений, поскольку в конечном счете определяет способность этих соединений проникать через мембрану клеток [9, 11]. Хорошая растворимость позволяет получить биоактивную молекулу с достаточным уровнем биодоступности, выраженными фармакологическими и минимальными побочными эффектами [7]. При этом следует учитывать, что излишне гидрофильные соединения также неспособны проникать внутрь клетки, а

слишком гидрофобные – недоступны для реакции в водных условиях [8]. По этой причине изучение растворимости биологически активных соединений может стать основой для дальнейшей прогностической оценки физиологического действия этих соединений в организме человека [10–13].

Значительную часть минорных биологически активных веществ составляют растительные полифенолы. Это, как правило, низкомолекулярные вторичные метаболиты растений, представленные несколькими крупными классами. Наиболее изученным является

класс флавоноидов, который включает более чем 10 000 видов соединений (рис. 1) [1–3, 7, 15].

Многие из этих веществ были идентифицированы как фармакологические средства, обладающие противовоспалительной, антиоксидантной, антилипидемической, антигипергликемической и противораковой активностью [5–8, 15]. Вместе с тем, низкая растворимость и биодоступность многих из этих соединений ограничивает их применение в пищевой, химической и фармацевтической промышленности [7, 14, 15].

Важно отметить, что структурно полифенолы отличаются наличием различных заместителей в кольцах и их положением, степенью насыщения бензо-γ-пираном. Ряд исследований, представленных в литературе, указывает на то, что эти особенности в значительной степени определяют растворимость полифенольных соединений [9–12].

Таким образом, изучение растворимости полифенолов, относящихся к разным классам, имеющих разную природу и расположение заместителей, но обладающих выраженной физиологической ценностью, является важным и определяет **цель** настоящего исследования. В рамках исследования оценивалась термодинамическая растворимость дигидрокверцетина, рутина и ресвератрола в воде. Ка-

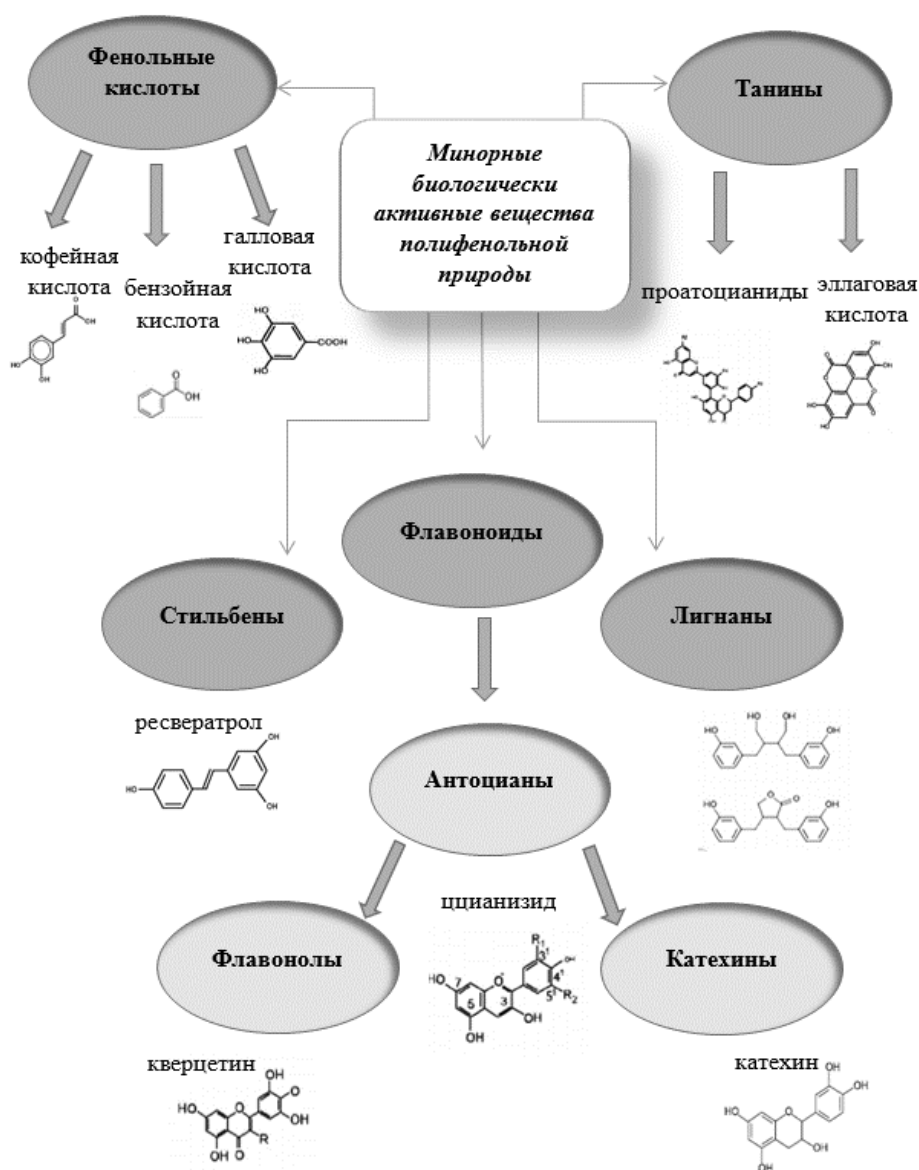


Рис. 1. Обобщенная схема классификации полифенолов [3]

ждое из этих соединений на сегодняшний день достаточно хорошо изучено. Установлен обширный перечень фармакологических эффектов этих соединений, в том числе антиоксидантный, противовоспалительный, антидиабетический, антиадипогенный, нейропротекторный и другие. Достаточно хорошо известна и низкая растворимость этих веществ в воде. Нами же предпринята попытка оценить растворимость выбранных соединений в воде в зависимости от температуры растворителя и продолжительности процесса растворения и сопоставить полученные результаты со структурными особенностями молекул исследуемых веществ.

#### Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали:

– флавононол таксифолин, изготовитель ООО «Таксифолия», Белгород, чистота 98–99 %;

– флавонол рутин, изготовитель Now Foods (США), чистота 97–99 %;

– стильбен ресвератрол, изготовитель Hunan Nutrmax Inc., чистота не менее 98 %.

Структурные формулы молекул представлены на рис. 2.

Исследования термодинамической растворимости выбранных соединений в воде проводили с использованием следующих подходов: избыток каждого вещества вносили в

5 мл дистиллированной воды и перемешивали в термостатируемом встряхивателе с поддержанием скорости 200 об/мин в течение 60 мин. Затем растворы центрифугировали при скорости 5000 об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость фильтровали через мембранный фильтр (0,45 мкм). В полученном фильтрате определяли содержание активного вещества спектрофотометрическим методом, используя реактив Фолин-Чакольеу. Эксперименты проводили в нескольких температурных и временных точках: 20, 35, 50 °C и 20, 40 и 60 мин.

#### Результаты исследования

Результаты определения динамики растворимости исследуемых веществ представлены на рис. 3.

Полученные данные свидетельствуют о принципиальной разнице в растворимости исследуемых полифенолов. Наиболее близкими значениями растворимости в воде характеризовались дигидрокверцетин (рис. 3а) и ресвератрол (рис. 3б), несмотря на их принадлежность к разным классам полифенолов: флавоноидам и стильбенам соответственно. Для этих веществ была отмечена низкая растворимость в воде при комнатной температуре (20 °C) через 20 мин, значение составило порядка 0,06–0,08 %. Это указывает на крайнюю степень гидрофобности этих соединений. Длительность процесса растворения су-

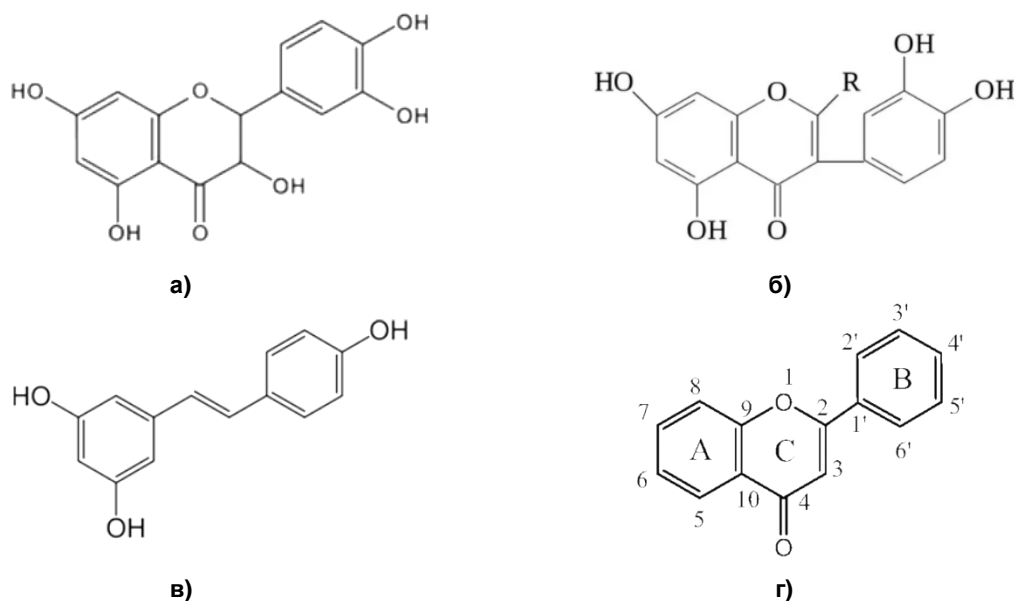
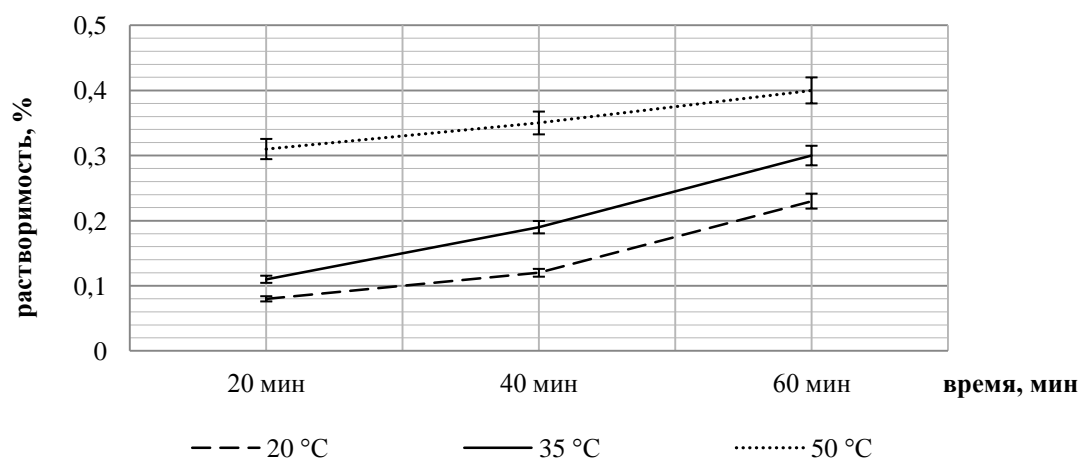
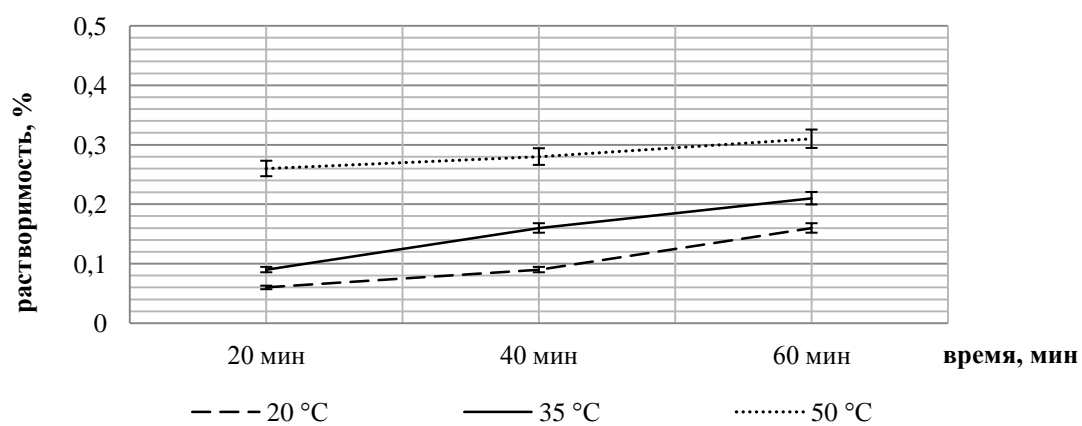


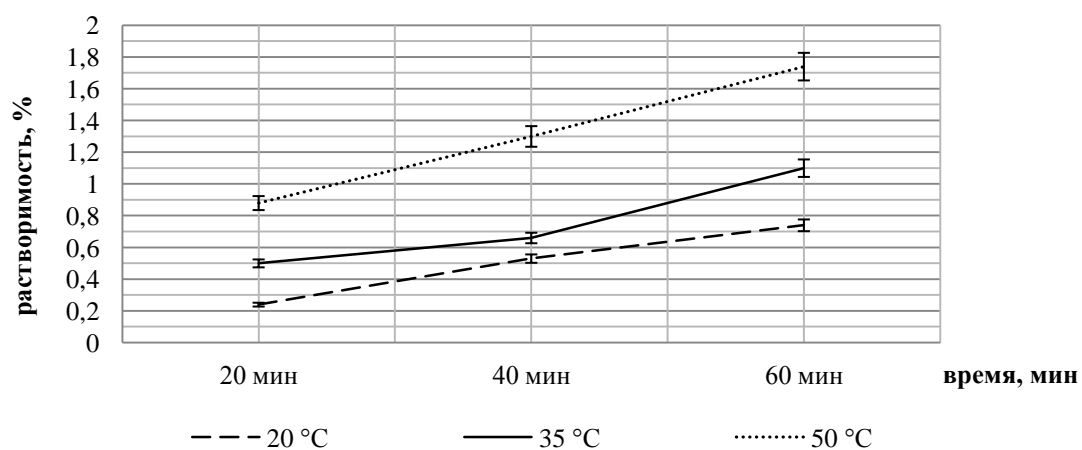
Рис. 2. Структурная формула молекул дигидрокверцетина (а), рутина (б) и ресвератрола (в), схематичное изображение молекулы (д)



а)



б)



в)

Рис. 3. Профиль скорости растворения образцов полифенолов:  
а – дигидрокверцетин, б – ресвератрол 2, в – рутин

ществленных коррективов при данной температуре не вносила.

Повышение температуры позволило увеличить растворимость этих соединений в воде практически в 4 раза, однако фактические значения перехода веществ в раствор оставались низкими.

Сопоставляя максимальные значения растворимости дигидрокверцетина и ресвератрола в точке 50 °С и 60 мин, можно отметить, что растворимость последнего уступает растворимости дигидрокверцетина более чем на 20 %. Согласно литературным данным весомый вклад в увеличение растворимости полифенолов в воде вносит количество –ОН заместителей в кольце В [10]. Это подтверждают и полученные нами результаты, в кольце В ресвератрола один –ОН заместитель в положении 4, в кольце В молекулы дигидрокверцетина два –ОН заместителя в положениях 4 и 5.

Значения растворимости в воде рутина (рис. 3в) весомо отличались от ранее описанных веществ. Уже в точке 20 °С и 20 мин растворимость рутина в 3–4 раза превышала растворимость дигидрокверцетина и ресвератрола. Значительное влияние на растворимость рутина оказывает повышение температуры растворителя. Угол наклона кривой, отражающей зависимость растворимости рутина в воде при температуре 50 °С, значительно больше, чем для дигидрокверцетина и ресвератрола. Это согласуется и с данными, представленными в литературе. Исследования A. Valdisserotto et. al. показали повышение эффективности экстракции рутина из растительного сырья при использовании горячей воды [4]. Сопоставляя структурные особенности молекул исследуемых веществ, можно указать на близкое строение молекул рутина и дигидрокверцетина. Вместе с тем, можно отметить разное положение –ОН заместителей в кольце В в отличие от дигидрокверцетина – это положения 3 и 4, а также наличие двойной связи в положении 2-3 кольца С. Согласно исследований [10] двойная связь С<sub>2</sub>-С<sub>3</sub>, а также со

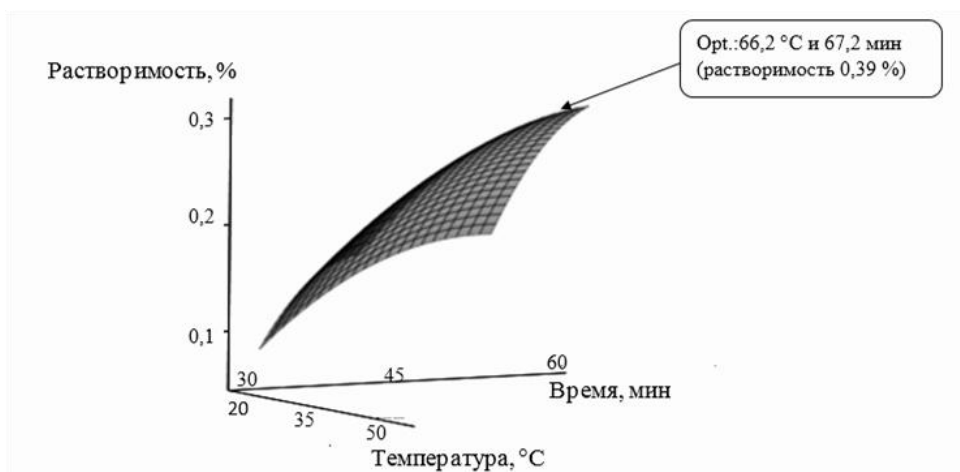
единение кольца В с кольцом С через связь С<sub>3</sub> значительно повышают растворимость полифенолов в воде, что и подтверждают полученные нами данные. Однако, несмотря на более высокую степень растворимости рутина в воде в сравнении с дигидрокверцетином и ресвератролом, значения растворимости для данного вещества в точке 50 °С и 60 мин не превышали 2 %.

На основании полученных результатов была проведена математическая обработка данных с применением регрессионного анализа и определено оптимальное сочетание регулируемых параметров для растворения каждого из веществ (рис. 4).

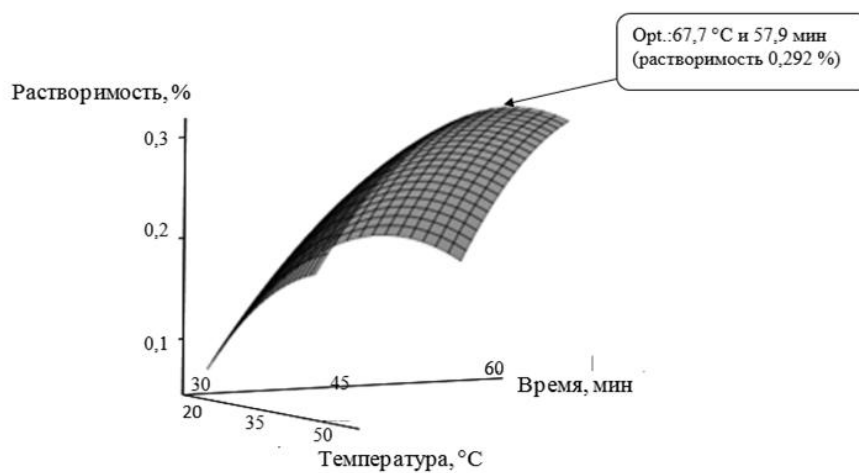
Представленные на рис. 4 данные указывают на то, что для увеличения растворимости каждого из исследуемых веществ необходимо повышение температуры растворителя, причем для рутина этот фактор играет определяющее значение. Для дигидрокверцетина и ресвератрола дополнительно требуются и существенные временные затраты на процесс растворения, что может быть связано с более плотным строением кристаллической решетки этих веществ и, как следствие, медленным процессом проникновения растворителя.

#### Заключение

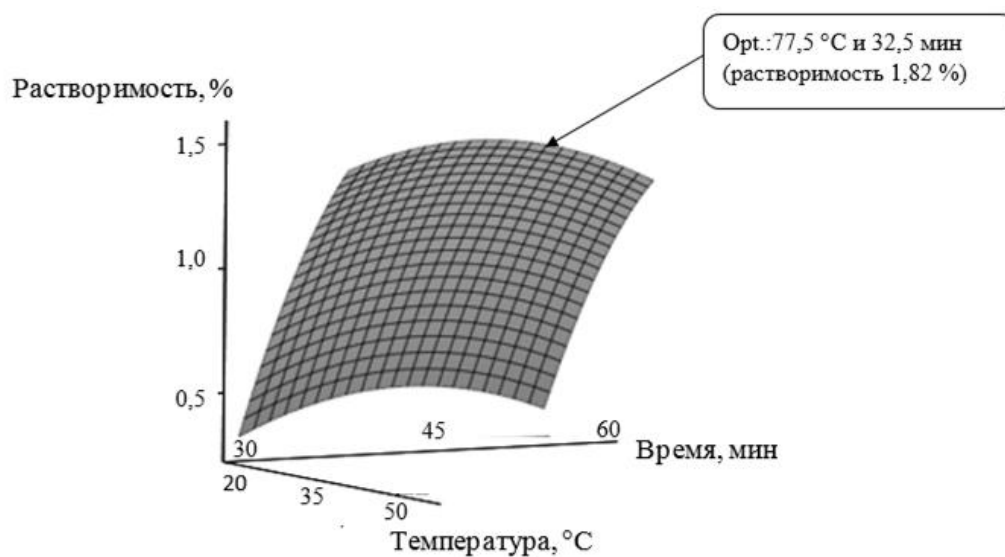
Таким образом, проведенные нами исследования показали, что исследуемые представители полифенолов отличаются низкой растворимостью в воде, что может стать фактором, ограничивающим проявление их физиологических эффектов в системах организма человека. Полученные результаты указывают на целесообразность поиска решения этой проблемы. Вместе с тем, для полного понимания спектра необходимых для решения задач, следует провести дополнительные исследования растворимости изучаемых полифенолов, в частности в 1-октанол (веществе, имитирующем биологические жидкости), провести расчеты термодинамических характеристик процессов растворения, что составляет основу будущих исследований.



а)



б)



в)

Рис. 4. Поверхность отклика зависимости показателя растворимости полифенолов от температуры и времени растворения: а – дигидрокверцетин, б – ресвератрол 2, в – рутин

### Список литературы/References

1. Потороко И.Ю., Паймулина А.В., Ускова Д.Г. и др. Антиоксидантные свойства функциональных пищевых ингредиентов, используемых при производстве хлебобулочных и молочных продуктов, их влияние на качество и сохраняемость продукции // Вестник ВГУИТ. 2017. Т. 79, № 4. С. 143–151. [Potoroko I.Yu., Paimulina A.V., Uskova D.G., Kalinina I.V., Popova N.V., Shirish S. The antioxidant properties of functional food ingredients used in the production of bakery and dairy products, their impact on quality and storageability of the product. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 2017, vol. 79, no. 4, pp. 143–151. (In Russ.)] DOI: 10.20914/2310-1202-2017-4-143-151
2. Шатилов А.В., Богданова О.Г., Коробов А.В. Роль антиоксидантов в организме в норме и при патологии // Ветеринарная патология. 2007. № 2. С. 207–211. [Shatilov A.V., Bogdanova O.G., Korobov A.V. The role of antioxidants in the body in health and pathology. *Veterinary Pathology*, 2007, no. 2, pp. 207–211. (In Russ.)]
3. Федосеева Г.М., Минович В.М., Горячкина Е.Г., Переломова М.В. Фитохимический анализ растительного сырья, содержащего флавоноиды: учебное пособие. Иркутск, 2009. [Fedoseeva G.M., Mirovich V.M. Goryachkina E.G., Perelomova M.V. Phytochemical analysis of plant raw materials containing flavonoids]. (In Russ.)] URL: <https://mir.ismu.baikal.ru>
4. Baldisserotto A., Vertuani S., Bino A., De Lucia D., Lampronti I., Milani R., Gambari R., Manfredini S.. Design, synthesis and biological activity of a novel Rutin analogue with improved lipid soluble properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2015, vol. 23(1), pp. 264–271.
5. Martinez-Perez C., Ward C., Cook G., Mullen P., Mcphail D., Harrison D.J. et al. Novel flavonoids as anti-cancer agents: mechanisms of action and promise for their potential application in breast cancer. *Biochem. Soc. Trans.*, 2014, vol. 42 (4), pp. 1017–1023.
6. Zu Y., Wu W., Zhao X. et. al. Enhancement of solubility, antioxidant ability and bioavailability of taxifolin nanoparticles by liquid antisolvent precipitation technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, vol. 471, pp. 366–376.
7. Feizi S., Jabbari M., Farajtabar A. A systematic study on solubility and solvation of bioactive compound chrysin in some water + cosolvent mixtures. *J. Mol. Liq.*, 2016, vol. 220, pp. 478–483.
8. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Sci.*, 2012, vol. 196 (3), pp. 67–76.
9. Perlovich G.L., Ryzhakov A.M., Strakhova N.N., Kazachenko V.P., Schaper K.J., Raevsky O.A. Thermodynamic aspects of solubility and partitioning processes of some sulfonamides in the solvents modeling biological media. *J. Chem. Thermodyn.*, 2014, vol. 69 (2), pp. 56–65.
10. Zhang H., Wang M., Chen L. et al. Structure-solubility relationships and thermodynamic aspects of solubility of some flavonoids in the solvents modeling biological media. *Journal of Molecular Liquids*, 2017, vol. 225, pp. 439–445.
11. Weston L.A., Mathesius U. Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *J. Chem. Ecol.*, 2013, vol. 39 (2), pp. 283–297.
12. Nacz M., Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A*, 2004, vol. 1054(1–2), pp. 95–111.
13. González R., Ballester I., López-Posadas R., Suárez M.D., Zarzuelo A., Martínez-Augustin O. et al. Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2011, vol. 51 (4), pp. 331–362.
14. Ozaki S., Nakagawa Y., Shirai O., Kano K. Substituent effect on the thermodynamic solubility of structural analogs: relative contribution of crystal packing and hydration. *J. Pharm. Sci.*, 2014, vol. 103 (11), pp. 3524–3531.
15. Blokhina S.V., Volkova T.V., Ol'Khovich M.V., Sharapova A.V., Proshin A.N., Perlovich G.L. Solubility and solution thermodynamics of novel bicyclic derivatives of 1,3-selenazine in biological relevant solvents. *J. Chem. Eng. Data*, 2014, vol. 59 (7), pp. 2298–2304.



*Информация об авторах*

**Калинина Ирина Валерьевна**, доктор технических наук, профессор кафедры пищевых и биотехнологий, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, kalininaiv@susu.ru

**Попова Наталия Викторовна**, кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры пищевых и биотехнологий, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, nvpopova@susu.ru

**Фаткуллин Ринат Ильгидарович**, кандидат технических наук, доцент кафедры пищевых и биотехнологий, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, 5792687@mail.ru

**Науменко Екатерина Евгеньевна**, бакалавр инфокоммуникационных технологий, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, 9193122375@mail.ru

**Васильев Андрей Константинович**, магистрант кафедры пищевых и биотехнологий, Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия, mbz2018vak72@susu.ru

*Information about the authors*

**Irina V. Kalinina**, doctor of technical sciences, professor of the Department of Food and Biotechnology, South Ural State University, Chelyabinsk, kalininaiv@susu.ru

**Natalia V. Popova**, Candidate of Sciences (Engineering), Associate Professor, South Ural State University, Chelyabinsk, nvpopova@susu.ru

**Rinat I. Fatkullin**, PhD, South Ural State University, Chelyabinsk, 5792687@mail.ru

**Ekaterina E. Naumenko**, Bachelor's Degree student at the Department of Information and Communications Technologies, South Ural State University, Chelyabinsk, Russia, 9193122375@mail.ru

**Andrey K. Vasiliev**, Master's student of the Department of Food and Biotechnology, South Ural State University, Russia, mbz2018vak72@susu.ru

*Статья поступила в редакцию 04.01.2022*  
*The article was submitted 04.01.2022*