



УДК 615.074:577.16:547.917

## ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ ВКЛЮЧЕНИЯ ДИЭФИРОВ ЛЮТЕИНА С $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

**М.С. ЛАПШОВА**  
**В.И. ДЕЙНЕКА**  
**Л.А. ДЕЙНЕКА**  
**А.А. ТИХОВА**

*Белгородский  
государственный  
национальный  
исследовательский  
университет*

*e-mail: deineka@bsu.edu.ru*

В настоящей работе исследовано взаимодействие диэфиров лютеина (ДЭЛ), выделенных из лепестков цветков бархатцев, с  $\beta$ -циклодекстрином (ЦД). Показано, что спектральные характеристики образующихся в водных растворах агрегатов ДЭЛ не зависят от присутствия или отсутствия ЦД, но методом лазерной корреляционной спектроскопии установлено увеличение размеров агрегатов при добавлении ЦД. Получены сухие порошки комплексов включения с высокой стабильностью при хранении в морозильной камере, удобные для приготовления лекарственных и профилактических препаратов и водных дисперсий.

Ключевые слова: диэфиры лютеина,  $\beta$ -циклодекстрин, комплексы включения, агрегаты каротиноидов.

**Введение.** Каротиноиды не синтезируются в организме человека, поэтому они должны поступать в организм с пищей или в составе лекарственных или профилактических средств. К настоящему времени известно, что кроме очень важного  $\beta$ -каротина и других соединений, обладающих провитаминой А активностью, для здоровья человека необходимы и некоторые другие каротиноиды [1]. Так, относительно недавно налажено производство препаратов на основе лютеина и зеаксантина – двух ксантофиллов, обеспечивающих профилактику возрастной макулярной дистрофии [2]. Однако при разработке рецептур необходимо учитывать биодоступность препаратов. Так, усвояемость каротиноидов выше из липидных матриц, чем при употреблении нативных растительных материалов [1], а по данным [3], наивысшей биодоступностью отличаются комплексы включения каротиноидов с  $\beta$ -циклодекстрином. Привлекательность циклодекстринов (циклических олигомеров глюкозы) в качестве молекул «хозяев» в образовании комплексов включения объясняется их доступностью и нетоксичностью. В гидрофобной полости  $\beta$ -циклодекстрина с гидрофильной внешней поверхностью могут разместиться (полностью или частично) подходящие по размерам молекулы «гостя». Образование таких комплексов не только изменяет растворимость «гостя», но и его химическую активность (в том числе и стабильность). В одном из патентов США [4] предложен метод получения наноразмерных комплексов лютеина с  $\beta$ -циклодекстрином, предназначенных для непосредственного введения в кормовые добавки с повышенной биодоступностью. А поскольку диэфиры лютеина – форма, в которой синтезируется лютеин в основном природном источнике – в лепестках цветков бархатцев, – обладают высокой биодоступностью [5], то интерес представляет создание композиций на основе комплексов включения этих соединений с  $\beta$ -циклодекстрином.

**Цель настоящей работы** – получение и изучение свойств комплексов включения диэфиров лютеина с  $\beta$ -циклодекстрином.

**Методы.** Диэфиры лютеина экстрагировали из высушенного сырья (лепестков цветков бархатцев) *n*-гексаном. Для очистки от сопутствующих примесей каротиноиды из полученного экстракта сорбировали на концентрирующих патронах, заполненных силикагелем, и затем десорбировали ацетоном.

Для регистрации спектров использовали спектрофотометр СФ-56. Спектры релеевского рассеивания записывали с использованием лазерного анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Расчет комплексов включения методом молекулярной механики проводили в среде HyperChem 8.0.

**Результаты.** Диэфиры лютеина (ДЭЛ) относятся к высоколипофильным соединениям, что должно обеспечить высокую биодоступность диэфиров, но, с другой стороны, привести к практически нулевой растворимости в воде. И действительно, каротиноиды вообще и ДЭЛ в частности не отличаются высокой растворимостью даже в

органических растворителях, из которых наиболее удобно использовать ацетон или *n*-гексан. Высокополярный  $\beta$ -циклодекстрин (ЦД) обладает наименьшей среди циклодекстринов растворимостью в воде и практически нерастворим в ацетоне (или в *n*-гексане). Однако от *n*-гексана пришлось отказаться, поскольку при встряхивании этого растворителя с водным раствором ЦД образуется обильная пена и коллоидный водный раствор, из которого при стоянии выделяется белый осадок. Это свидетельствует о том, что алкильные радикалы способны образовывать комплексы включения с ЦД, и поэтому можно это свойство экстраполировать на диэфиры лютеина, образованные радикалами насыщенных высших жирных кислот.

Таким образом, остается использование ацетонового концентрата ДЭЛ и водного раствора ЦД. При этом возможно два альтернативных порядка смешивания растворов для получения комплексов включения:

**а** – к насыщенному водному раствору  $\beta$ -циклодекстрина постепенно добавляют концентрированный раствор диэфиров лютеина в ацетоне;

**б** – к концентрированному раствору ДЭЛ постепенно добавляют насыщенный раствор ЦД.

Из этих методов более удобен первый, поскольку при добавлении ацетонового экстракта к 0.001 М раствору ЦД осадок образуется постепенно при достижении больших соотношений *n*-гексан: раствор ЦД (до примерно 1:1), а при обратном прибавлении циклодекстрин быстрее выделяется из смеси. При малых соотношениях *n*-гексан : раствор ЦД (от 1:200 до 1:10) осадок не образуется и за сутки. Действительно, по способу **а** получается коллоидный раствор с очевидно большей устойчивостью к седиментации, чем при получении такой смеси по способу **б** (рис.1).

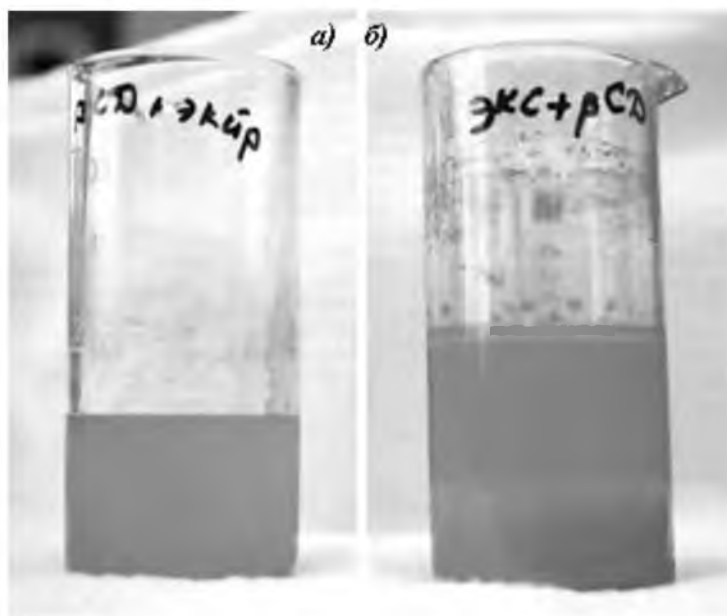


Рис. 1. Сопоставление седиментационной устойчивости комплексов включения диэфиров лютеина и  $\beta$ -циклодекстрина, полученных по двум вариантам

Однако детектирование комплексов включения в данном случае не такая простая задача, поскольку при добавлении раствора ДЭЛ как к раствору ЦД, так и к чистой воде образуются коллоидные растворы с высокой устойчивостью. Хорошо известно [6], что при постепенном снижении растворимости каротиноидов при добавлении к их раствору в органическом (смешивающемся с водой) растворителе (например, этаноле или использованном в настоящей работе ацетоне) сразу не выделяется гетерофаза каротиноидов, а образуются коллоидные агрегаты одного из двух типов. Первый из них, названный **H**-типом, соответствует тесной упаковке молекул каротиноидов (одна над другой с совпадением центров, но с разворотом по оси, проходящей через центры молекул), приводящей по модели молекулярных экситонов к гипсохромному смещению максимумов абсорбции, а по второму (**J**-) типу с упаковкой «голова-хвост» наблюдается батохромный сдвиг максимума абсорбции. Для диэфиров лютеина, поведение которых было исследовано

в настоящей работе, изменения, возникающие при добавлении воды к ацетоновому раствору, характерны для образования **J**-агрегатов. Типичный (например, для раствора в ацетоне) электронно-колебательный спектр диэфиров лютеина с максимумом, приходящимся на переход электрона на второй колебательный уровень первого возбужденного электронного состояния, заметно усложняется (рис.2), при этом спектры в растворах ЦД и в воде практически не различаются.

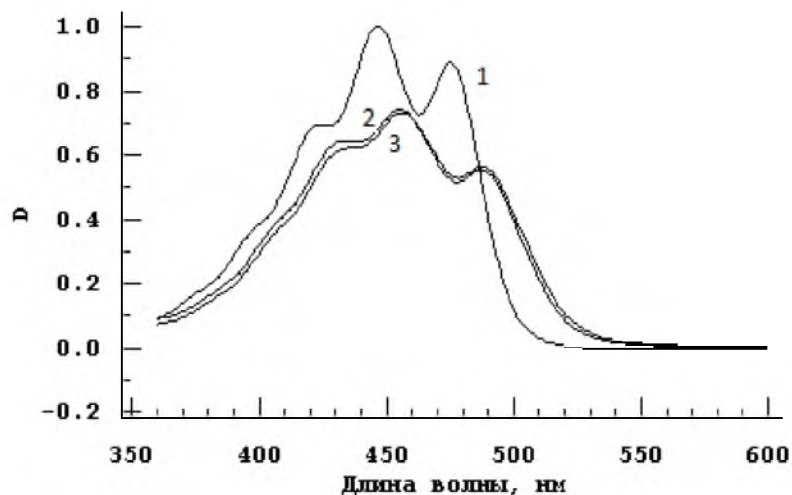


Рис. 2. Спектры диэфиров лютеина в трех средах  
 1 – в ацетоне; 2 – в водном растворе; 3 – в водном растворе с добавкой β-циклодекстрина

Таким образом, если образование комплексов включения и имеет место, то наиболее вероятно, что связано оно со внедрением в полость ЦД радикалов высших жирных кислот эфирных группировок, не входящих в хромоформные группы. Как показывает расчет по методу молекулярной механики (в среде HyperChem 8.0), полость ЦД может вместить две цепи метиленовых групп, а) и б), рис.3, объединяя агрегаты по радикалам ВЖК.

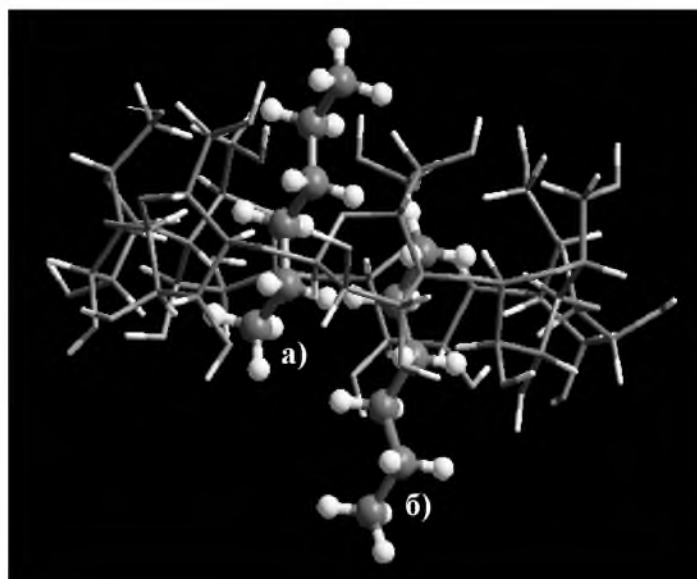


Рис. 3. Моделирование включения двух метиленовых цепей в полость β-циклодекстрина

Следовательно, комплексообразование может привести к изменению размеров агрегатов. Поэтому в дальнейшем мы исследовали полученные коллоидные растворы с использованием лазерного анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments),

использующего технологии рассеяния лазерного света. Действительно, при переходе от коллоидных растворов ДЭЛ в воде к коллоидным растворам с добавлением ЦД при прочих равных условиях наблюдается увеличение размеров коллоидных частиц (рис.4).

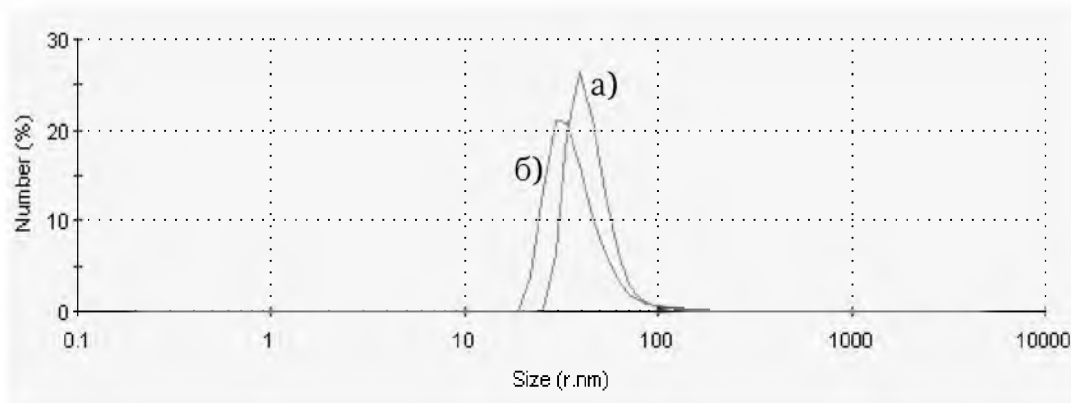


Рис. 4. Размеры коллоидных частиц диэфиров лютеина с (а) и без (б) добавок  $\beta$ -циклодекстрина

При этом следует отметить, что, по нашим данным, увеличение размеров коллоидных частиц наблюдается при добавлении  $\beta$ -циклодекстрина не только к растворам диэфиров лютеина, но и к растворам ликопина и даже неэтерифицированного лютеина.

Наконец, комплексообразование подтверждается тем, что выделенные нами осадки характерного желтого цвета после лиофилизации превращались в сыпучий порошок желтого цвета (рис.5).



Рис. 5. Фотография порошка комплекса включения диэфиров лютеина с  $\beta$ -циклодекстрином

Для разрушения коллоидного раствора и отделения осадка необходимо добавить ацетон до соотношения водный раствор : ацетон примерно 1:1 (соотношение зависит от концентрации компонентов) исходного коллоидного раствора.

Полученный сухой комплекс, содержащий 10 ÷ 20-кратный избыток ЦД, обладает хорошей устойчивостью при хранении в морозильной камере (сохранность диэфиров превышает 95% в течение одного месяца) без дополнительных мер защиты. При этом для количественного определения ксантофиллы легко извлекаются из навесок образцов экстракцией ацетоном. Полученный композит удобен для введения в любые лекарственные и профилактические препараты (или для диспергирования в воде или в водных растворах).

**Выводы.** Комплексы включения диэфиров лютеина с  $\beta$ -циклодекстрином могут быть получены с использованием смешения ацетонового экстракта диэфиров лютеина и водного раствора  $\beta$ -циклодекстрина. Методом лиофильной сушки получен порошок комплекса включения с хорошей сохранностью при хранении в морозильной камере.



### Литература

1. Hickenbottom S.J., Follett J.R., Lin Y., Dueker S.R., Burri B.J., Neidlinger T.R., J Clifford A.J. Variability in conversion of  $\beta$ -carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design // *Am J Clin Nutr* 2002;75:900-7.
2. Lutein and Zeaxanthin/ Monograph // *Alternative Medicine Review*. – 2005. – V.10. - P. 128-135.
3. Madhavi D.L., Kagan D.I. Bioavailable carotenoid-cyclodextrin formulations for soft-gels and other encapsulation systems // Patent US 7.446.101 B1.
4. Bartlett M., Mastaloudis A., Smidt C., Poole S.J. Nanosized carotenoid cyclodextrin complexes // US Patent Application 2011/0129562 A1.
5. Wu L., Huang X., Shi K., Tan R Bioavailability Comparison of Free and Esterified Lutein for Layer Hens // *Brazilian Journal of Poultry Science*. – 2009. – V.11. – P. 95-98.
6. Simonyi N., Bikadi Z., Zsila F., Deli J. Supramolecular chirality of carotenoid aggregates // *Chirality*. – 2003. – V.15. – P. 680-698.

## RECEPTION AND PROPERTIES OF INCLUSION COMPLEXES OF LUTEIN DIESTERS AND $\beta$ -CYCLODEXTRIN

**M.S. LAPSHOVA**  
**V.I. DEINEKA**  
**L.A. DEINEKA**  
**A.A. TICHOVA**

*Belgorod National Research  
University*

*e-mail: deineka@bsu.edu.ru*

In the present paper interaction of lutein diesters (LDE) extracted from dried African marigold petals with  $\beta$ -cyclodextrin (CD) has been under investigation. It has been shown that spectral properties of carotenoid aggregates formed in water solutions do not depend upon presence or absence of CD while laser correlation spectroscopy reveals the enlargement of aggregates at CD addition. Lyophilized dried powder of the complexes had high stability at refrigerator's freezing chamber storage being suitable for fabrication of drugs and beverages.

Key words: lutein diesters,  $\beta$ -cyclodextrin, inclusion complexes, aggregates of carotenoids.