

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького
Факультет харчових технологій та біотехнологій
Кафедра біотехнологій та радіології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня магістра

Біотехнологічна розробка та оцінка наносистем для **підвищення біодоступності природних поліфенолів**

Виконав: студент 2 курсу,
групи 1, спеціальності
G 21 Біотехнології та біоінженерія
Федунь П. П.
Керівник: Штапенко О. В.
Рецензент: Гевкан І. І.

Роботу заслухано на засіданні кафедри біотехнології та радіології і
рекомендовано до захисту, протокол № __ від _____ 2025 р.

Завідувач кафедри біотехнології та радіології,
професор, доктор с.-г. наук

Василь БУЦЯК

Львів – 2025

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького

Інститут, факультет, відділення факультет харчових технологій та
біотехнологій

Кафедра, циклова комісія кафедра біотехнологій та радіології

Освітньо-кваліфікаційний рівень магістр

Спеціальність G21 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
завідувач кафедри, голова циклової
комісії Буцяк В.І.
“ ” 2025 року

**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧУ
Федуню Петру Петровичу**

1. Тема магістерської роботи «Біотехнологічна розробка та оцінка наносистем для підвищення біодоступності природних поліфенолів»

Керівник магістерської роботи

Штапенко Оксана Всеволодівна, д. б.н., с.н.с.

затверджені наказом вищого навчального закладу від 20.06.2025 року №497-4

2. Строк подання магістерської роботи 18.11.2025 року.

3. Вихідні дані до магістерської роботи.

Вихідні матеріали до виконання роботи: кверцетин; антиоксидант; вільні радикали; фармакологічні властивості; наночастинки.

4. Зміст магістерської роботи (перелік питань, які потрібно розробити) вступ, огляд літератури, умови та методика проведення досліджень, результати досліджень, висновки, список використаної літератури.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) графіки, діаграми, рисунки, технологічні схеми, технологічні лінії) Рисунки: хімічна структура кверцетину; структурна різноманітність флавоноїдів); структура та джерела кверцетину; схематичне зображення молекулярної структури кверцетину та його регуляторного впливу на клітинні сигнальні шляхи (індукція апоптозу та аутофагії); модуляція окисного стресу та р53-опосередкованого апоптозу Кверцетином у канцерогенезі.

Таблиці: характеристика та вихід отриманих зразків; насичена розчинність кверцетину в різних формуляціях (рН 6.8); відсоток вивільнення кверцетину (%) у різних формуляціях (рН 6.8); відсоток вивільнення кверцетину (%) за методом діалізу (рН 6.8); порівняння параметрів вивільнення кверцетину за 60

хвилин; аналіз морфології та подвійного променезаломлення зразків; узагальнення фізичного стану кверцетину у формуляціях.

6. Консультанти розділів магістерської роботи

Розділ	Консультант ПІБ, посада	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
1. Літературний огляд	доц. Штапенко О. В.		
2. Методика експерименту та основні методи досліджень	доц. Штапенко О. В.		
3. Експериментальна частина	доц. Штапенко О. В.		
4. Висновки	доц. Штапенко О. В.		

7. Дата видачі завдання 10.09.2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів магістерської роботи	Термін виконання	Примітка
1.	Літературний огляд.		35%
	I атестація:	07.10.25 р.	35%
2.	Методика експерименту та основні методи досліджень.		20%
3.	Експериментальна частина.		40%
	II атестація:	07.11.25 р.	55%
4.	Висновки		5%
	III атестація:	18.11.25 р.	10%
	Допущено до захисту.	11.12.25 р.	100%

Здобувач

_____ Петро ФЕДУНЬ

Керівник магістерської роботи

_____ Оксана ШТАПЕНКО

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Характеристика та біологічна активність кверцетину.....	10
1.2. Біологічна та фармакологічна дія кверцетину.....	14
1.2.1. Антиоксидантні властивості.....	15
1.2.2. Серцево-судинні захворювання.....	16
1.2.3. Хвороба Альцгеймера.....	18
1.2.4. Антимікробна активність.....	19
1.2.5. Протівірусна активність.....	19
1.2.6. Гепатопротекторна активність.....	20
1.2.7. Окислювальний стрес та запалення.....	21
1.3. Молекулярні шляхи, на які впливає кверцетин.....	21
1.3.1. Клітинний цикл.....	21
1.3.2. Апоптоз.....	23
1.3.3. Передача сигналів Wnt/ β -катеніну.....	24
1.3.4. Активність p53.....	24
1.3.5. Експресія as.....	26
1.3.6. Сигнальний шлях PI3K та NF- κ B	26
1.3.7. Аутофагія.....	28
1.4. Біодоступність кверцетину.....	28
1.5. Сучасні стратегії підвищення біодоступності та стабільності кверцетину.....	30
1.5.1. Наночастинки.....	31
1.5.2. Ліпосоми.....	33
1.5.3. Ліпідні наночастинки.....	34
1.5.4. Полімерні наночастинки	35
1.5.5. Наночастинки LGA.....	36
1.5.6. Неорганічні наночастинки.....	37

1.5.7. Позаклітинні везикули.....	39
РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	41
2.1. Матеріали та реактиви.....	41
2.2. Методика отримання та оцінки твердих дисперсій (ТД) кверцетину.....	42
2.3.1. Отримання твердих дисперсій кверцетину методом співосадження.....	42
2.3.2. Оцінка профілю розчинення <i>in vitro</i> методом шейкера/струшування.....	43
2.3. Оцінка профілю вивільнення <i>in vitro</i> методом діалізу.....	44
2.4. Морфологічної характеристики	44
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	46
3.1. Отримання та візуальна характеристика твердих дисперсій.....	46
3.2. Насичена розчинність та профіль розчинення кверцетину <i>in vitro</i>	48
3.2.1. Результати визначення насиченої розчинності	48
3.2.2. Результати дослідження профілю розчинення <i>in vitro</i>	49
3.2.3. Дослідження профілю вивільнення методом діалізу.....	51
3.2. Морфологічна характеристика твердих дисперсій.....	54
ВИСНОВКИ.....	59
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	61

АНОТАЦІЯ

Робота написана на 69 сторінках комп'ютерного тексту. Складається із вступу, трьох розділів, висновків та списку використаної літератури. Містить 5 рисунків, 8 таблиць, 74 джерела використаної літератури.

Актуальність теми. Повна реалізація терапевтичного потенціалу біологічно активних речовин (БАР), зокрема кверцетину, унеможлиблюється через їхні значні фармацевтичні обмеження, що диктує напружену необхідність у пошуку та адаптації нових, вискоєфективних технологічних рішень [3, 25, 40].

Кверцетин є одним із найактивніших флавоноїдів, чия ефективність ґрунтується на потужних антиоксидантних [16, 45, 68] та протизапальних властивостях, що робить його перспективним у профілактиці та лікуванні серцево-судинних [66], запальних, метаболічних та онкологічних захворювань [37, 46, 50, 64].

Незважаючи на цей широкий спектр біологічної активності, його клінічне застосування є вкрай обмеженим через несприятливі фізико-хімічні властивості, а саме — надзвичайно низьку розчинність у воді [6, 25]. Ця низька розчинність призводить до того, що кверцетин класифікується як сполука, що має низьку пероральну біодоступність, оскільки більша частина прийнятої дози виводиться з організму без абсорбції [3, 6]. Таким чином, головна актуальність роботи полягає у вирішенні проблеми сольобілізації кверцетину [7, 25].

Серед сучасних технологій, що підвищують розчинність, метод твердих дисперсій (ТД) є одним із найбільш ефективних і масштабованих [25]. Актуальність вибору цього методу пояснюється тим, що він дозволяє перевести кверцетин з його термодинамічно стабільного кристалічного стану в аморфний або молекулярно диспергований стан. Саме аморфна форма має значно вищу внутрішню енергію та термодинамічну активність, що забезпечує різке збільшення швидкості розчинення [10].

Таким чином, розроблена в рамках даного дослідження оптимальна тверда дисперсія кверцетину є ключовим технологічним рішенням, що дозволяє подолати проблему низької розчинності та забезпечити повноцінну реалізацію його терапевтичного потенціалу.

Метою дослідження є розробка, оптимізація та фізико-хімічне обґрунтування ефективності твердих дисперсій кверцетину (КВ) з поліетиленгліколем 6000 (ПЕГ 6000) для значного підвищення його розчинності та швидкості вивільнення *in vitro*, що є ключовою передумовою для максимізації його біодоступності.

Для досягнення поставленої мети необхідно виконати наступні **завдання**:

1. Розробити та здійснити синтез твердих дисперсій кверцетину з ПЕГ 6000 методом співосадження, варіюючи масові співвідношення КВ : ПЕГ 6000 (наприклад, 1:1, 1:3, 1:5) для визначення оптимальної формуляції.

2. Кількісно оцінити насичену розчинність чистого кверцетину, фізичної суміші та отриманих твердих дисперсій у фосфатному буферному розчині (рН 6.8) для визначення ступеня підвищення розчинності.

3. Дослідити профілі вивільнення кверцетину з оптимальної твердої дисперсії порівняно з чистим КВ та фізичною сумішшю, використовуючи метод шейкера/струшування та уточнюючу методику діалізу.

4. Провести морфологічний аналіз (оптична мікроскопія із застосуванням поляризованого світла) для підтвердження структурної трансформації кверцетину (перехід з кристалічної форми в аморфну) в оптимальній твердій дисперсії.

5. На основі отриманих даних про розчинність, вивільнення та морфологію, обґрунтувати фізико-хімічний механізм, який забезпечує значне підвищення біодоступності кверцетину в складі твердої дисперсії.

Об'єктом дослідження є тверді дисперсії кверцетину.

Предметом дослідження є фізико-хімічні та біофармацевтичні властивості твердих дисперсій кверцетину з поліетиленгліколем 6000 (ПЕГ 6000), зокрема, залежність насиченої розчинності, швидкості вивільнення *in*

in vitro від масового співвідношення кверцетину та полімеру-носія та їхній фізичний стан.

Методи дослідження: біотехнологічні (синтез та модифікація фізичного стану кверцетину в полімерній матриці шляхом методу співосадження (випарювання розчинника)), біофармацевтичні (дослідження профілю вивільнення *in vitro* методом шейкера/струшування та методом діалізу), фізико-хімічні та аналітичні (УФ-спектрофотометрія, гравіметричний аналіз (визначення відсотку виходу), морфологічна характеристика (оптична мікроскопія із застосуванням поляризаційних фільтрів)).

Наукова новизна одержаних результатів.

Новизна даного дослідження полягає у систематичній розробці та комплексному фізико-хімічному обґрунтуванні вискоєфективної фармацевтичної формуляції для підвищення біодоступності кверцетину. У дослідженні розроблено та оптимізовано тверду дисперсію кверцетину зі співвідношенням КВ : ПЕГ 6000 (1:5), ефективність якої підтверджено не лише кількісно (збільшення розчинності), але й інструментально-морфологічно (Оптична Мікроскопія). Встановлено прямий кореляційний зв'язок між втратою кристалічності (переходом КВ в аморфний стан) та експоненціальним зростанням розчинності.

Встановлено, що розроблена ТД 1:5 забезпечує майже 20-кратне збільшення насиченої розчинності та повне вивільнення Кверцетину *in vitro* протягом 60 хвилин. Це надає нові кількісні дані про високу ефективність ПЕГ 6000 як полімеру-носія для формування високодоступної форми Кверцетину.

Застосовано методику діалізу, яка дозволила уточнити профіль вивільнення і довести, що ТД 1:5 забезпечує високу концентрацію саме молекулярно розчиненої, біологічно доступної форми кверцетину (27-кратний приріст), а не лише колоїдних агрегатів.

Практичне значення одержаних результатів.

Практичне значення роботи полягає у створенні надійної технологічної основи для розробки нових високоефективних препаратів та нутрицевтиків на основі кверцетину.

Отримана оптимальна формуляція ТД 1:5 (Кверцетин/ПЕГ 6000) може бути безпосередньо використана як активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) для створення таблетованих або капсульованих форм, що дозволить знизити дозування кверцетину для досягнення бажаного терапевтичного ефекту.

Забезпечення високої швидкості розчинення та підвищеної біодоступності кверцетину дозволить повною мірою реалізувати його антиоксидантний та протизапальний потенціал *in vivo*, що має велике значення для лікування та профілактики серцево-судинних, метаболічних та запальних захворювань.

Розроблена методологія синтезу ТД методом співосадження та система оцінки ефективності (розчинність, діаліз, морфологія) можуть бути адаптовані та впроваджені для підвищення розчинності інших, погано розчинних у воді, біологічно активних речовин та флавоноїдів.

Ключові слова: кверцетин; антиоксидант; вільні радикали; фармакологічні властивості; наночастинки.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Організм підтримує активний баланс між виробленням вільних радикалів та антиоксидантів, що гарантує прояв токсичності кисню лише в патологічних станах [3]. Природні антиоксиданти, включаючи вітаміни, мінерали та різні рослинні сполуки, можуть запобігати шкідливому впливу вільних радикалів. Дослідження властивостей поліфенолів стимулюється їхньою асоціацією з перевагами для здоров'я та самопочуття [64, 74].

Поліфеноли – це природні сполуки, які синтезуються виключно рослинами, переважно у формі глікозидів, і подібні до фенольних сполук [61]. Ці молекули переважно містяться у фруктах, овочах, зеленому чаї та цільозернових продуктах. Флавоноїди, які є основними структурами поліфенолів, зазвичай зустрічаються в глікозидній формі. Всі флавоноїди мають фундаментальну структуру дифенілпропану ($C_6-C_3-C_6$), де фенольні кільця (A і B) з'єднані гетероциклічним кільцем C, яке часто є замкнутим піраном [26].

Флавоноїди мають потужну антиоксидантну дію, будучи здатними поглинати широкий спектр активних форм кисню (ROS), активних форм азоту (RNS) та активних форм хлору (ROC), які діють як відновники шляхом хелатування іонів перехідних металів [67, 68].

1.1. Характеристика та біологічна активність кверцетину

Кверцетин (3, 5, 7, 3', 4'-пентагідроксифлавоон) є флаванолом групи флавоноїдних поліфенолів [9]. Це флавоноїд з молекулярною масою 302,24 г/моль та температурою плавлення 316 °C. Кверцетин складається з п'яти гідроксильних груп (рис. 1.1.), які визначають біологічну активність сполуки [26, 35]. Його структура має п'ять функціональних гідроксильних груп, які діють як донори електронів та відповідають за захоплення вільних радикалів. Кверцетин має 15 атомів вуглецю та два ароматичні кільця, з'єднані 3-вуглецевим містком [49]. Цитрусово-жовті кристали кверцетину розчинні в ліпідах та спиртах, але не у воді [5].

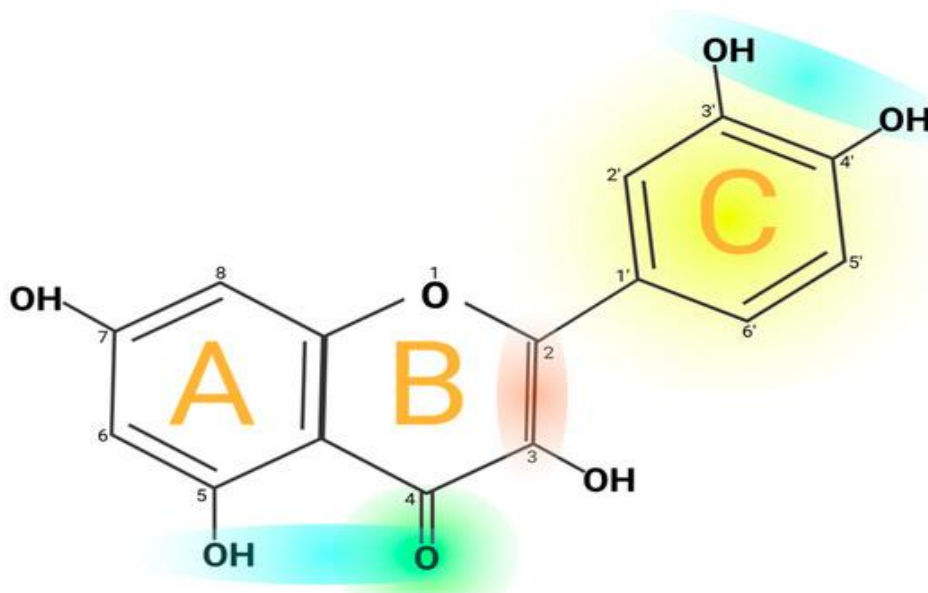


Рис. 1.1. Хімічна структура кверцетину [9].

На рисунку показано хімічні характеристики, які надають йому антиоксидантної здатності, найважливішою з яких є катехолова або дегідроксильована структура В-кільця (жовтий). Іншими важливими характеристиками є наявність ненасиченості в С-кільці (червоний) та наявність 4-оксо в С-кільці (зелений); кисень у положенні 4 та гідроксил у положенні 5 дозволяють йому хелатувати іони, такі як Cu та Fe (синій). Загалом кверцетин має 5 функціональних гідроксильних груп з потенціалом до кон'югації, які відрізняються за своєю хімічною реакційною здатністю в порядку реакційної здатності $3 > 7 > 3' > 4' \gg 5$. Фенольні гідроксильні групи кверцетину діють як донори електронів, і вони відповідають за активність захоплення вільних радикалів, зокрема катехолова структура з 2 гідроксильними групами в сусідніх положеннях, що значно перевершує інші схеми донорства електронів [9].

Кверцетин існує у двох основних формах:

1. **Аглікон (безцукрова структура):** Це сам кверцетин, який має жовтий колір і нерозчинний у холодній воді, але добре розчинний у спирті та олії [5].

2. **Глікозидна форма.** Найпоширенішою формою кверцетину є рутин, який зазвичай глікозильований шляхом додавання цукрової групи (глюкози, рамнози або рутину) замість -ОН групи (зазвичай у положенні 3). Глікозидна група збільшує розчинність у воді порівняно з агліконовою структурою. Кон'югована форма кверцетин глікозиду має вищий рівень абсорбції [73].

Структурна різноманітність молекул флавоноїдів виникає через варіації в характері гідроксилювання та ступені окиснення центрального піранового кільця, що призводить до широкого спектру сполук, включаючи флаванолі, антоціанідини, антоціани, ізофлаволи, флаволи, флаволи, флавоноли, флаванолі та флаванолі (деякі з цих структур зображено на Рис. 1.2 [11]).

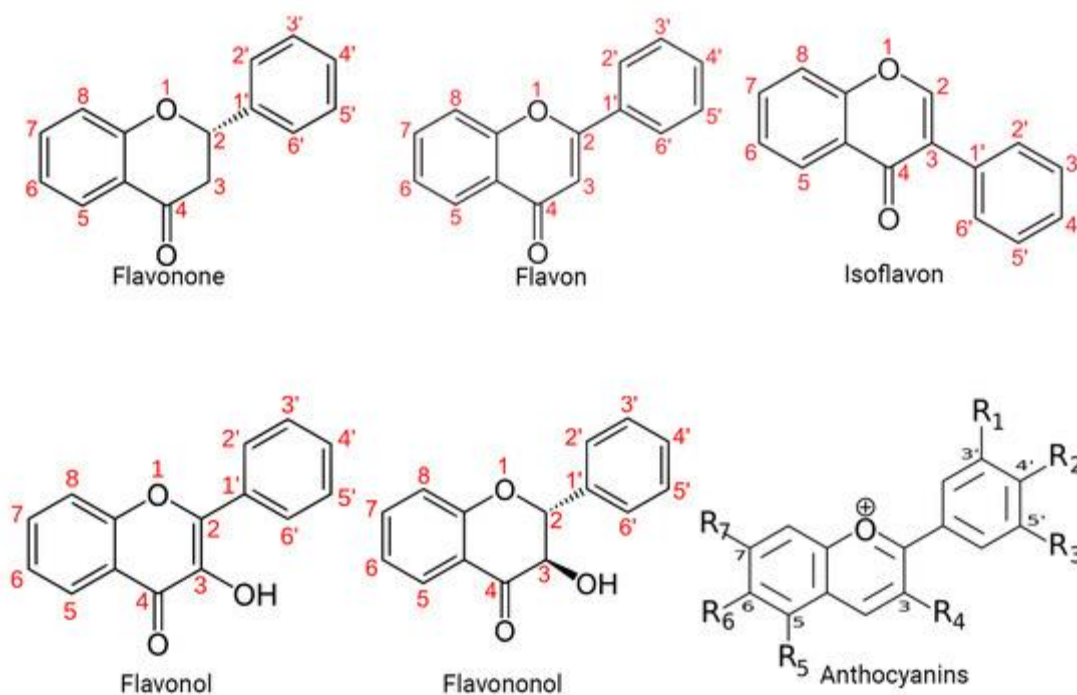


Рис. 1.2. Структурна різноманітність флавоноїдів [9].

На рис. 1.2 представлено структурну різноманітність молекул флавоноїдів. Варіації в характері гідроксилювання та ступені окиснення центрального піранового кільця призводять до утворення широкого спектру сполук [9].

Кверцетин можна отримати з рослинних джерел, серед яких цитрусові, квіти, зелені листові овочі, насіння, кора, гречка, брокколі, оливки, мигдаль,

цибуля, яблука, червоний виноград, зелений чай та ягоди. У цибулевій шкірці міститься приблизно в 77 разів більше кверцетину, ніж у їстівній частині [6]. Вилучення біоактивних компонентів з цибулевого шкіркового покриття можливе різними методами, включаючи екстракцію розчинником, екстракцію за допомогою ультразвуку та мікрохвиль [6].

Кверцетин є найпоширенішим флавоноїдом. Він зазвичай міститься як компонент у деяких видах рослин, таких як каперси, чай, помідори, часник, шпинат і бруксельська капуста; у фруктах, таких як виноград, яблука, ягоди, груші та вишні; а також у насінні, горіхах, квітах, корі та листі. Крім того, він також міститься в деяких рослинах медичного призначення, таких як звіробій (*Hypericum perforatum*) та бузина канадська (*Sambucus canadensis*) [34, 61]. Деякі продукти містять велику кількість цієї сполуки. Наприклад, гречка містить до 23 мг кверцетину на 100 г, а бджолиний пилок містить майже 21 мг на 100 г [3].

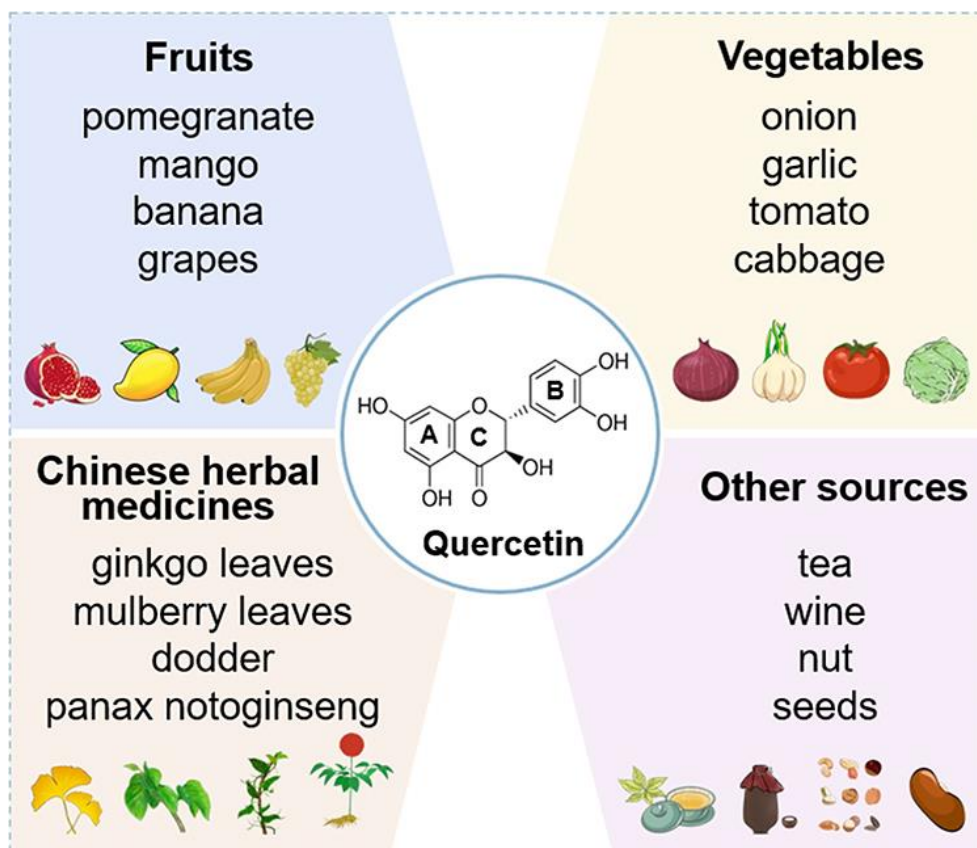


Рис. 1.3. Структура та джерела кверцетину

Більшість кверцетину, що споживається щодня з їжею, знаходиться в глікозидній формі, яка утворюється шляхом додавання глікозильної групи (цукру, такого як глюкоза, рамноза або рутин) замість -ОН групи (положення 3), тоді як аглікозидна форма міститься в значно менших кількостях. Одним зі значних джерел аглікону кверцетину є цибуля; аглікон кверцетину більш поширений у зовнішніх шарах цибулі, тоді як внутрішні шари містять більшу кількість глікозидів кверцетину. До 10% сухої ваги цибулі може складатися з кверцетину в різних формах [3]. Крім того, поліфенольний профіль фруктів та овочів залежить від виду рослини, умов вирощування, умов збору врожаю та методів зберігання. Наприклад, зберігання при високих або дуже низьких температурах знижує вміст кверцетину в продуктах харчування. Натомість вміст кверцетину в полуниці, що зберігалася при температурі 20 °C протягом дев'яти місяців, збільшився приблизно на 32% [7 , 69].

1.2. Біологічна та фармакологічна дія кверцетину

Кверцетин має потужну антиоксидантну здатність, захоплюючи активні форми кисню (ROS), активні форми азоту (RNS) та активні форми хлору (ROC), і діє як відновник шляхом хелатування іонів перехідних металів. Антиоксидантний ефект досягається шляхом поглинання вільних радикалів та підтримки оксидативного балансу [6].

Завдяки своїй антиоксидантній та іншій біологічній активності, кверцетин широко використовується у фармацевтичних, косметичних та нутрицевтичних продуктах [39], оскільки він забезпечує захист від різних захворювань, таких як метаболічні та запальні розлади [8].

Основні фармакологічні властивості кверцетину, розглянуті в цьому огляді:

- Антиоксидантна дія: захищає від оксидантів та запалення [67].
- Протизапальна та протиалергічна дія реалізується головним чином через пригнічення ліпоксигенази та циклооксигенази (COX) [66].

- Протиракова (канцерогенна) та протипухлинна дія використовується для лікування різних видів раку, а також має противиразкові властивості [50, 74].

- Інші властивості. Противірусні, антигіпертензивні, імуномодулюючі [54], протистаріння, здатність захищати від окислення ліпопротеїнів низької щільності (LDL) та здатність пригнічувати ангіогенез.

Окрім антиоксидантної здатності, описані різні фармакологічні властивості, пов'язані з введенням кверцетину, такі як його канцеростатичні властивості (антимутагенні властивості, пригнічення проліферації клітин та індукція апоптозу), противірусні властивості (проти вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ), вірусу гепатиту В (ВГВ) та вірусу простого герпесу (ВПГ)), антигіпертензивні властивості (зменшення гіпертрофії шлуночків), протизапальні властивості, захист ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) від окислення та пригнічення ангіогенезу [64].

1.2.1. Антиоксидантні властивості

Окислювальний стрес стосується патофізіологічних реакцій, спричинених надмірним виробленням високореактивних молекул, таких як активні форми кисню (АФК), в організмі, та порушенням регуляції окиснювально-антиоксидантного балансу під впливом різних шкідливих подразників [45]. Окислювальний стрес може пошкоджувати мітохондріальну ДНК, денатурувати внутрішньоклітинні білки, спричиняти перекисне окислення ліпідів та стимулювати запалення [45]. Завдяки фенольній гідроксильній групі та подвійному зв'язку кверцетин проявляє потенційну антиоксидантну активність. Кверцетин є потужним поглиначем активних форм кисню (АФК), захищаючи організм від окисного стресу [56]. Крім того, кверцетин підтримує окисний баланс, що робить його потужним антиоксидантом, та регулює рівень глутатіону (GSH) в організмі [28]. Дослідження на тваринах та клітинах показали, що кверцетин індукує синтез GSH [37]. Наприклад, описано збільшення експресії супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) та GSH при

попередній обробці кверцетином [45]. У зв'язку з цим кверцетин посилює антиоксидантну здатність організму, підвищуючи рівень глутатіону (GSH). Це пояснюється тим, що після утворення вільних кисневих радикалів в організмі супероксиддисмутаза (SOD) швидко захоплює O_2^- та перетворює його на H_2O_2 . Крім того, цей фермент каталізує розщеплення H_2O_2 на нетоксичну H_2O . Ця реакція вимагає GSH як донора водню [45].

Окрім прямих антиоксидантних властивостей, властивих хімічній родині, до якої він належить, кверцетин може взаємодіяти з ендогенною антиоксидантною мережею, активуючи антиоксидантно-чутливий елемент (ARE). ARE – це консенсусна послідовність, відповідальна за запуск транскрипції більшості ендогенних антиоксидантних ферментів, включаючи такі відомі, як NADPH-дегідрогеназа хінон 1 (NQO1), глутатіон-S-трансфераза (GSTA), тіоредоксин (TRX), гемоксигеназа (HMOX1), легкий ланцюг феритину (FTL) та індукцибельна синтаза оксиду азоту (NOS). Механізм, за допомогою якого кверцетин здійснює цей процес, включає підвищення активності ядерного фактора еритроїду 2, пов'язаного з фактором 2 (NRF2), посилення його зв'язування з ARE, зменшення його деградації та, як наслідок, збільшення синтезу задіяних ферментів [45].

1.2..2. Серцево-судинні захворювання

Високий кров'яний тиск – це стан, при якому кров'яний тиск в артеріях постійно високий. Цей стан може бути небезпечним, оскільки він може збільшити ризик серцево-судинних захворювань та інсульту [48]. Дослідження на тваринах і людях показали, що кверцетин сприяє зниженню артеріального тиску, знижуючи його. Наприклад, Абдельффар та ін. виявили зниження систолічного, діастолічного та середнього артеріального тиску, зменшення гіпертрофії шлуночків та менше пошкодження ниркової та судинної паренхіми на моделі щурів з гіпертензією. Ці результати частково зумовлені судинорозширювальною властивістю кверцетину, що, у свою чергу, пояснюється здатністю кверцетину поглинати вільні радикали, які зазвичай

активують секрецію 8-ізо-простагландину F2 α , потужного вазоконстрикторного гормону [48]. Аналогічно, дослідження, опубліковане в Британському журналі харчування, показало, що щоденний прийом кверцетину (730 мг) протягом 12 тижнів значно знижує артеріальний тиск у дорослих з ожирінням та надмірною вагою, передгіпертензією та гіпертензією 1 стадії [48]. Крім того, було досліджено деякі основні молекулярні механізми, за допомогою яких може діяти кверцетин. Одна з теорій полягає в тому, що кверцетин викликає активацію ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS), що призводить до утворення оксиду азоту (NO) – вазодилатора, який розслаблює кровоносні судини та знижує кров'яний тиск. Згідно з кількома дослідженнями, кверцетин збільшує активність eNOS та утворення NO [66]. Іншим механізмом, за допомогою якого кверцетин може здійснювати свій антигіпертензивний ефект, є пригнічення ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ). Ангіотензин II, потужний вазоконстриктор, що підвищує кров'яний тиск, утворюється ферментом АПФ, і було показано, що кверцетин пригнічує активність АПФ, знижуючи кров'яний тиск.

Кілька досліджень показали, що кверцетин позитивно впливає на серцево-судинні захворювання [66]. Сурі та ін. оцінили вплив на вазоконстрикторні та вазодилаторні реакції в серці свині, повідомивши, що кверцетин збільшував як вміст циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), так і цГМФ-залежні релаксації до гліцерилтринітрату (ГТН) та нітропрусиду натрію (СНП), а також стримування скорочень, опосередкованих рецепторами свиней [66]. Також дослідження на щурах показало, що кверцетин (0,1–100 мкМ) послаблював скорочення, викликане попередньою обробкою п'ятьма мМ норадреналіну, концентраційно-залежним чином. Був висновок, що кверцетин індукує підвищення рівня Ca⁺⁺, що призводить до продукування NO та активації Ca⁺⁺-активованого K⁺ каналу (KCa) ендотеліальних клітин [66]. Слід також зазначити, що кверцетин продемонстрував протизапальні властивості у пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС) через зниження транскрипційної активності ядерного фактора каппа В (NF-Kb). Чекаліна та ін. визначили вплив

кверцетину на пацієнтів з ІХС, щоб перевірити цей ефект. У дослідженні взяли участь вісімдесят п'ять пацієнтів з ІХС. Тридцять пацієнтів отримували кверцетин у добовій дозі 120 мг протягом двох місяців, тоді як решта п'ятдесят п'ять пацієнтів, яких вважали контрольною групою, отримували β -блокатори, статини та аспірин. У сироватці крові пацієнтів з ІХС було виявлено підвищений рівень інтерлейкіну 1β (IL- 1β), фактора некрозу пухлини- α (TNF- α) та IL-10. Під впливом кверцетину рівні інтерлейкіну 10 (IL-10), IL- 1β та TNF- α знижувалися. Також кверцетин знижував експресію інгібітора $\beta\alpha$ каппа (Ik $\beta\alpha$) порівняно з контрольною групою [66].

1.2.3. Хвороба Альцгеймера

Також було запропоновано, що кверцетин може мати терапевтичний вплив на хворобу Альцгеймера (ХА) через кілька молекулярних механізмів [30, 41]. Окислювальний стрес та нейрозапалення відіграють вирішальну роль у патогенезі ХА, і кверцетин може поглинати вільні радикали та пригнічувати вироблення запальних цитокінів, тим самим зменшуючи оксидативний стрес та запалення в мозку [30]. Іншим механізмом є здатність кверцетину модулювати активність ферментів у очищенні бляшок бета-амілоїду (A β), що є ознакою патології ХА [30]. Кверцетин може підвищувати активність неприлізину та інсуліндеградуючих ферментів, відповідальних за деградацію бляшок бета-амілоїду (A β) у мозку, тим самим зменшуючи їх накопичення та токсичність [30]. Кверцетин також може модулювати активність кіназ, що беруть участь у фосфорилуванні тау-білка, що є ще однією ознакою патології ХА.

Крім того, кверцетин може пригнічувати активність глікогенсинтази кінази 3 β , відповідальної за аномальне фосфорилування тау-білка, тим самим зменшуючи агрегацію тау-білка та нейрофібрилярні клубки в мозку [41]. Багато досліджень *in vivo* показали, що гідроксифункціональні групи в В-кільці кверцетину є важливими для пригнічення агрегації A β та зміни зрілих фібрил шляхом утворення водневих зв'язків зі структурою β -листа [30]. Крім того, інші дослідження показали, що кверцетин збільшує виживання нейрональних

культур *in vivo* [30]. Аналогічно, кверцетин у концентрації 100 мкМ показав значне пригнічення ферменту 1, що розщеплює бета-сайт амілоїдного попередника, на 11,85% [30]. Іншим характерним патологічним наслідком хвороби Альцгеймера є поява нейрофібрилярних клубків (NFT), де тау-білок є центральним білком. Кілька досліджень продемонстрували, що кверцетин ефективно пригнічує накопичення тау-білка за допомогою різних механізмів, таких як зниження гіперфосфорилування тау-білка, шляхом пригнічення активності глікогенсинтазкінази 3β (GSK3 β) [30].

1.2.4. Антимікробна активність

З іншого боку, повідомлялося, що кверцетин проявляє антимікробну активність проти різних мікроорганізмів [15]. Запропоновані механізми дії кверцетину в мікробних інфекціях включають пригнічення росту бактерій, утворення біоплівки, факторів вірулентності та модуляцію імунної відповіді господаря [15]. Було показано, що кверцетин має антибактеріальну дію проти грамнегативних та грампозитивних бактерій, включаючи штами, стійкі до антибіотиків, такі як метицилін-резистентний золотистий стафілокок (MRSA). Недавні дослідження показали, що кверцетин може ефективно змінювати цілісність мембрани бактеріальних клітин, тим самим пригнічуючи ріст бактерій. За допомогою аналізу за допомогою просвічувальної електронної мікроскопії (TEM) Ван та ін. спостерігали, що кверцетин ефективно змінював структурну цілісність клітинної стінки та мембрани *E. coli* та *S. aureus*. У оброблених *E. coli* клітинна стінка демонструвала численні структурні аномалії, такі як помітний лізис, деформація клітин, витік цитоплазматичної рідини та відокремлення цитоплазматичної мембрани від клітинної стінки. Аналогічно, у обробленого *S. aureus* спостерігалися значні зміни клітинної стінки, витончення клітинних мембран, лізис хроматину, відшарування позаклітинних полісахаридів та фрагментація ядра.

1.2.5. Протівірусна активність

Кілька досліджень показали, що кверцетин може мати протівірусну дію проти широкого спектру вірусів, включаючи вірус гепатиту С (ВГС), вірус грипу А (ВГА), вірус чикунгунья (ВЧКВ) та коронавірус тяжкого гострого респіраторного синдрому 2 (SARS-CoV-2). Пригнічення реплікації вірусу, проникнення в клітину хазяїна та імунної відповіді хазяїна – це деякі з механізмів, що передбачаються для протівірусної дії кверцетину [54]. Основними молекулярними механізмами протівірусної дії кверцетину є пригнічення вірусної нейрамінідази, протеаз, полімераз дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК)/рибонуклеїнової кислоти (РНК) та модифікація кількох вірусних білків [54]. Також було задокументовано, що він пригнічує ВГС шляхом зв'язування та інактивації вірусної NS3 протеази. Молекулярний докінг показав, що значущими взаємопов'язаними вузлами в білково-білковій мережі були протеїнкіназа В (AKT1) (серин/треонін протеїнкіназа), протоонкогенна тирозинпротеїнкіназа саркома (SRC), рецептор епідермального фактора росту (EGFR), матриксний металопротеїн (MMP9), рецептор кіназного вставного домену (KDR), MMP2, рецептор інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF1R), протеїнкіназа 2 (PTK2), білок резистентності до раку молочної залози (BCRP), надродина G АТФ-зв'язуючої касети (ABCG2) та мезенхімально-епітеліальний перехід (MET) [54]. Кверцетин пригнічує вірусну ретротранскриптазу, як і у випадку з вірусом мишачого лейкозу Раушера (RMLV), вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) та вірусом гепатиту В (HBV) [54]. Деякі опубліковані статті припускають, що протівірусна активність кверцетину частково зумовлена неспецифічним механізмом денатурації білка, який призводить до інактивації вірусу; однак деякі інші дослідники припускають можливість зв'язування кверцетину з поверхневими рецепторами, які віруси використовують для проникнення в клітини, блокуючи таким чином їхню інфекційну здатність [54].

1.2.6. Гепатопротекторна активність

Ще одним важливим аспектом кверцетину є його гепатопротекторна функція. Ця функція була продемонстрована на кількох тваринних моделях, зокрема на моделях хронічного ураження [45]. Хронічні захворювання печінки, загалом, прогресують подібним чином; вони починаються з процесу оксидативного стресу в органі, спричиненого чужорідним агентом, який може бути токсичним для вірусу, що, у свою чергу, призводить до запального стану, який активує процеси фіброгенезу. Якщо пошкодження зберігається, то захворювання прогресуватиме до того, що відомо як цироз печінки, що характеризується головним чином товстими пучками позаклітинного матриксу, вузликами регенерації та некрозом [45].

1.2.7. Окислювальний стрес та запалення

Як правило, на цій стадії утворюється велика кількість вільних радикалів (ROS, таких як супероксидний аніон ($\text{O}_2^{\cdot -}$), гідроксильний радикал ($\text{OH}^{\cdot}$), пероксильний радикал ($\text{RO}_2^{\cdot}$), та алкоксильний радикал ($\text{RO}^{\cdot}$), а також RNS та ROC), які атакують клітинні мембрани, активуючи клітини Купфера та гепатоцити. Було показано, що введення кверцетину знижує рівень оксидативного стресу, пов'язаного з пошкодженням, шляхом секвестрації та інактивації вільних радикалів завдяки його антиоксидантним властивостям, а також шляхом збільшення синтезу та активності ендогенних антиоксидантних ферментів [45].

Запальна реакція викликається інфільтруючими макрофагами (запальний інфільтрат) та макрофагами, що знаходяться в печінці (клітини Купфера). Вона характеризується вивільненням прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-6 (IL-6) та фактор некрозу пухлини α (TNF- α), а також профіброгенних цитокінів, які, у свою чергу, активують печінкові зірчасті клітини (HSCs), провідних продуцентів щільного позаклітинного матриксу. Експериментальні моделі показали, що кверцетин може знижувати експресію генів цих цитокінів

шляхом зниження їхнього основного транскрипційного фактора, ядерного фактора κB (NF κB) [66].

1.3. Молекулярні шляхи, на які впливає кверцетин

1.3.1. Клітинний цикл

Прогресія клітинного циклу життєво важлива для гомеостазу клітин, а взаємодія між циклінами, циклінзалежними кінзами (CDK) та інгібіторами CDK (CDKI) необхідна для забезпечення її впорядкованої прогресії. Кверцетин викликає зупинку клітинного циклу, впливаючи на кілька білків-мішеней, таких як p53, p21, p27, циклін B, D та циклінзалежні кінзи [1, 26, 74].

Таким чином, кверцетин переважно запускає зупинку клітинного циклу шляхом індукції p73 та p21 та інгібування цикліну B на рівні як транскрипції, так і трансляції. Він також може знижувати рівень цикліну B1 та циклінзалежної кінзи-1 (CDK-1), які необхідні для впорядкованої прогресії через фазу G2/M клітинного циклу. Однак, індукована кверцетином зупинка G1/S є не менш поширеною і відбувається через індукцію p21 та одночасне фосфорилювання білка ретинобластоми (RBP), який інгібує прогресію клітинного циклу G1/S, блокуючи E2F1 [1, 72, 74].

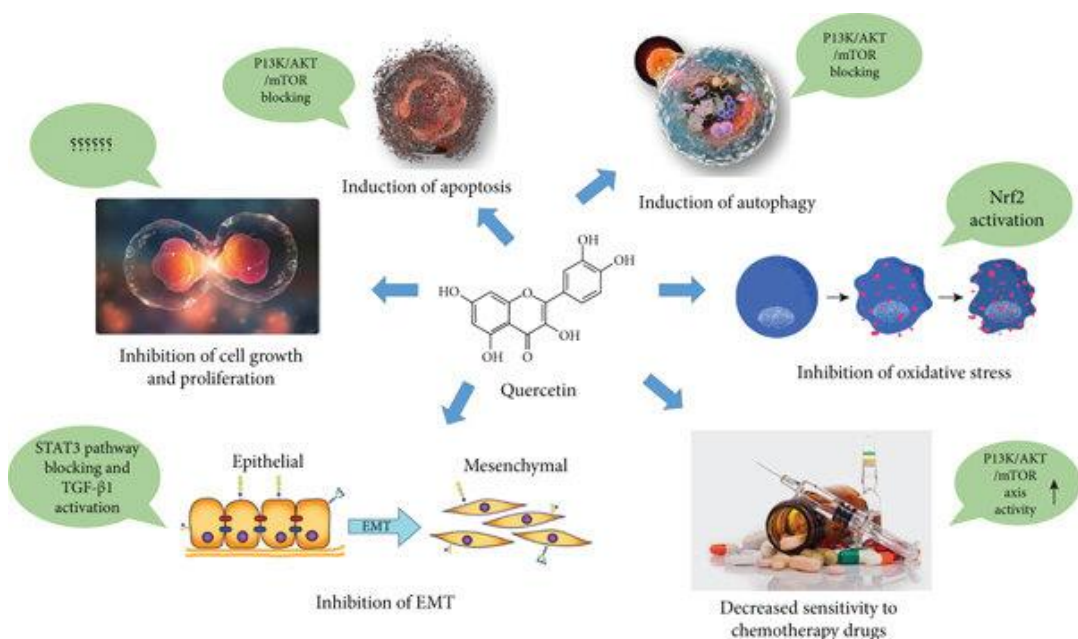


Рис. 1.4. Схематичне зображення молекулярної структури кверцетину та його регуляторного впливу на клітинні сигнальні шляхи (індукція апоптозу та аутофагії) [1].

Залежно від типу клітин, кверцетин може зупиняти клітини навіть у фазі G1. Таким чином, було показано, що індукція зупинки клітинного циклу G1 кверцетином викликає зниження циклінів D1/Cdk4 та E/Cdk2 та збільшення p21 у клітинах гладких м'язів судин [74]. Крім того, кверцетин відомий як потужний інгібітор топоізомерази II (ТороII), ферменту, пов'язаного з клітинним циклом, необхідного для реплікації ДНК, сегрегації хромосом і дволанцюгових розривів ДНК (DSB) у потрійному комплексі ДНК-ТороII-флавоноїд, так званому комплексі розщеплення ДНК [1, 74].

1.3.2. Апоптоз

Іншим аспектом є апоптоз, представлений специфічними клітинними подіями, включаючи утворення бульбашок, втрату клітинної адгезії, цитоплазматичне зменшення, фрагментацію ДНК та активацію каспаз через зовнішні та/або внутрішні шляхи. Дані свідчать про те, що кверцетин може індукувати апоптоз (клітинну смерть) через активацію каспази-3 та каспази-9, вивільнення цитохрому c та розщеплення поліАДФ-рибозо-полімерази (PARP) [72, 74]. Описано, що кверцетин індукує апоптоз у кількох клітинних лініях людини [72]. Також було висловлено припущення, що кверцетин індукує втрату потенціалу мітохондріальної мембрани, що призводить до активації каскаду каспаз та розщеплення PARP. Різні дослідження показали, що вплив кверцетину може збільшити експресію проапоптотичних білків, таких як Вах та цитохромний комплекс (Cyt c), що призводить до вивільнення та транслокації факторів, що індукують апоптоз, з мітохондрій до ядра [72, 74]. У зв'язку з цим, було також показано, що кверцетин активує внутрішній шлях апоптозу (наприклад, у клітинах MDA-MB-231) через Ca^{++} -опосередковану дисипацію потенціалу мітохондріальної мембрани (MMP) та активацію каспаз 3, 8 та 9

[72]. Як альтернатива, кверцетин може активувати білки родини Bcl-2, каспази, та супутню блокаду сигналізації PI3K/Akt та ERK [72].

Крім того, було виявлено, що кверцетин модулює білки, такі як NF- κ B та циклооксигеназа 2 (Cox-2), шляхом пригнічення антиапоптотичних білків В-клітинної лімфоми-екстравеликої (Bcl-xL) та Bcl-2, збільшуючи експресію проапоптотичних білків Вах. Він також зменшує співвідношення Bcl-xL до В-клітинної лімфоми-екстрамалої (Bcl-xs) та збільшує транслокацію Вах до мітохондріальної мембрани в клітинах раку простати людини [72, 74]. З іншого боку, у клітинах раку печінки, оброблених кверцетином, спостерігалось пригнічення сигнальних шляхів, таких як PI-3-кіназа, Akt та ERK, а також перехресні зв'язки між PI-3-кіназою та ERK. Крім того, було показано, що кверцетин активує Jun N-кінцеві кінази (JNK) та збільшує експресію JNK-залежних Вах та p53 у нормальних клітинах бронхіального епітелію. Таким чином, дані свідчать про те, що апоптотичні ефекти кверцетину можуть бути результатом інгібування кіназ HSP, а потім зниження експресії білків HSP-70 та HSP-90 [72].

1.3.3. Передача сигналів Wnt/ β -катеніну

Більше того, сигнальний шлях безкрилих клітин та Int-1(Wnt/ β)-катеніну/Т-клітинного фактора (TCF) є важливим для розвитку раку та клітинних процесів, таких як ріст та апоптоз [74]. Також було виявлено, що кверцетин індукує апоптоз у кількох типах клітин, пригнічуючи цей сигнальний шлях, блокуючи зв'язування β -катеніну з білками Tcf-4, уповільнюючи транслокацію цих білків до ядра та знижуючи транскрипційну активність β -катеніну/TCF [74]. Крім того, було виявлено, що кверцетин пригнічує ядерну транслокацію β -катеніну при потрійно негативному раку молочної залози (TNBC), у якого відсутні специфічні рецептори. У поєднанні з цим, кверцетин може пригнічувати епітеліально-мезенхімальний перехід (EMT) та стимулювати мезенхімально-епітеліальний перехід (MET) при TNBC; це пов'язано з його здатністю індукувати Е-кадгерин та пригнічувати рівень

віментину [74]. Зрештою, було показано, що кверцетин пригнічує накопичення β -катеніну в ядрі та експресію генів, регульованих β -катеніном, таких як циклін D1 та c-Мус, що може запобігати метастатичній поведінці TNBC та раку легень через Snail-опосередковану EMT [74].

1.3.4. Активність p53

Недавні дослідження показують, що кверцетин може вибірково індукувати апоптоз у ракових клітинах, впливаючи на активність p53, білка-супресора пухлин, який відіграє вирішальну роль у підтримці цілісності клітин та запобіганні утворенню пухлин [4, 72, 74].

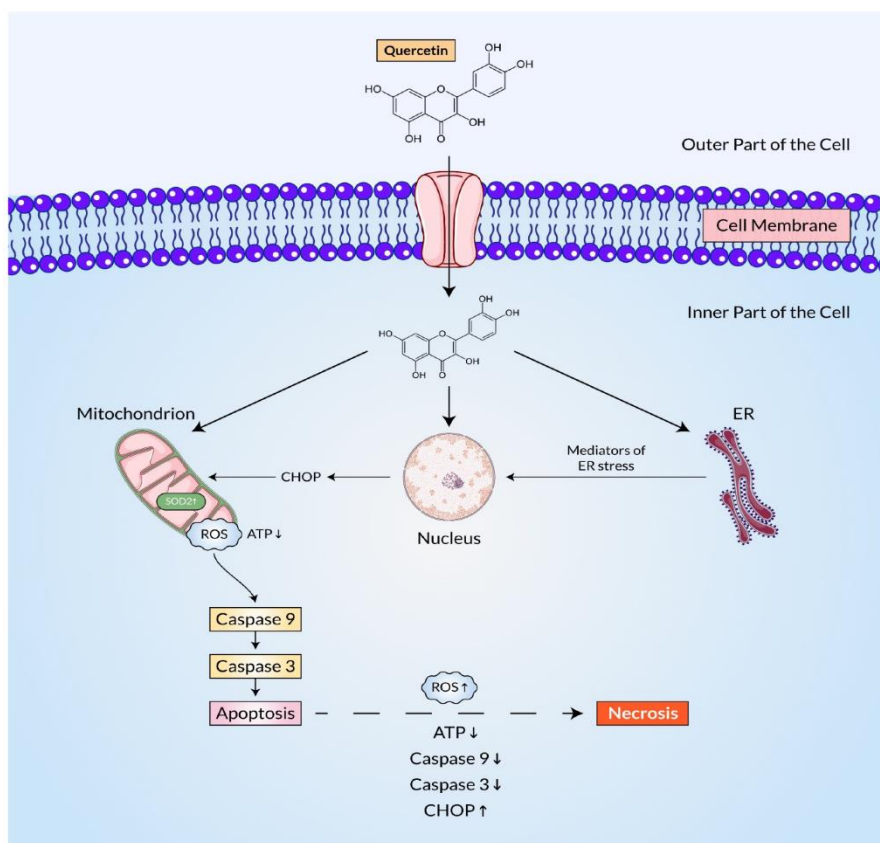


Рис. 1.5. Модуляція окисного стресу та p53-опосередкованого апоптозу Кверцетином у канцерогенезі [4].

Втрата функції p53 часто спостерігається при кількох типах раку, що робить його привабливою мішенню для терапії раку [72, 74]. Було показано, що кверцетин стимулює ацетилювання та фосфорилування p53 у ракових клітинах [4, 74]. Через посилену p53-опосередковану транскрипцію проапоптотичних

генів, таких як Вах, Р53-регульований модулятор апоптозу (PUMA) та форбол-12-міристан-13-ацетат-індукований білок 1 (NOXA), ракові клітини зрештою зазнають апоптозу. Крім того, кверцетин може інгібувати мишачий подвійний хвилинний білок 2 (MDM2), онкобілок, який сприяє руйнуванню р53 [4, 72, 74]. Альтернативно, р53 сприяє експресії NAG-1 (гена-1, активованого нестероїдними протизапальними препаратами), індукованій кверцетином, що призводить до апоптозу (наприклад, у клітинах раку товстої кишки HCT116). На додаток до р53, кілька інших транскрипційних факторів (таких як рання відповідь росту 1 (EGR-1), специфічний білок 1 (Sp1) та рецептор гамма, активований проліфератором пероксисом (PPAR γ)) беруть участь у експресії NAG1, індукованій кверцетином [4, 72, 74].

1.3.5. Експресія Ras

Було показано, що кверцетин діє в сигнальному шляху Ras-клітин, ключовій сигнальній системі, яка контролює проліферацію, диференціацію та виживання клітин. Багато злоякісних пухлин людини мають спільну рису порушення регуляції шляху Ras [72]. Згідно з кількома дослідженнями, кверцетин може запобігати експресії білків Ras [72, 74]. В одному дослідженні було виявлено, що кверцетин пригнічує експресію саркоми щурів Харві (H-Ras), K-Ras та саркоми нейробластоми щурів (N-Ras) у клітинах раку молочної залози людини, що призводить до зниження проліферації та посилення апоптозу [72, 74]. Наприклад, використовуючи кілька моделей ракових клітин людини, було показано, що кверцетин переважно знижує онкогенний білок Ras порівняно з Ras дикого типу за допомогою посттрансляційного механізму. Ці результати вперше вказують на те, що кверцетин знижує рівні онкогенного білка Ras, прискорюючи деградацію, опосередковану протеасомною функцією [72]. Чайрес Рамірес та ін. заявили, що кверцетин знижує стаціонарні рівні білків p21-ras як у клітинних лініях раку товстої кишки, так і в первинних колоректальних пухлинах; Ці результати були підтверджені Вестерн-блот аналізом та проточною цитометрією, які показали, що експресія p21-ras була

знижена приблизно на 50% від контрольних значень. Кверцетин був однаково ефективним в пригніченні експресії білків K-, H- та N-Ras. Крім того, вплив кверцетину на експресію онкогена Ras виявився специфічним, а не лише наслідком загального пригнічення синтезу білка [72, 74].

1.3.6. Сигнальний шлях PI3K та NF-κB

Іншим аспектом є сигнальний шлях PI3K (фосфатидилінозитол-3-кіназа), ліпідкіназа, яка фосфорилує 3'-позицію інозитольного кільця фосфатидилінозиту [66]. Вона відіграє вирішальну роль у рості клітин, проліферації, диференціації, рухливості, виживанні та внутрішньоклітинному транспорті. Кверцетин класифікується як інгібітор широкого спектру дії проти PI3K [66]. Повідомлялося, що кверцетин пригнічує активність PI3K/AKT та блокує проліферацію в лініях лейкозних клітин людини [72, 74]. Зокрема, кверцетин знижував шлях PI3K/AKT/mTOR та одночасно знижував фосфорилування AKT на Ser473, що свідчить про те, що він також перешкоджав кіназній активності комплексу mTORC2 [72, 74].

З іншого боку, результати дослідження Чена та ін. [66] вказують на те, що кверцетин може пригнічувати апоптоз та запалення, індуковані TNF-α, блокуючи сигнальний шлях NF-κB в ендотеліальних клітинах пуповинної вени людини (HUVEC), що може бути одним з основних механізмів лікування ішемічної хвороби серця [66]. Також дослідження показують, що він бореться із запаленням, пригнічуючи інгібітор фосфорилування ядерного фактора KB (IκB), транслокацію NF-κB, активуючи білок-1 (AP-1) та транскрипцію репортерного гена [66]. У цьому сенсі кверцетин є потенційним інгібітором NF-κB, що посилює його інгібіторні та/або хіміопрофілактичні властивості щодо росту. Зокрема, він пригнічує розвиток клітин раку легенів H460, інгібуючи NF-κB та активуючи рецептори смерті та інгібітори клітинного циклу [72, 74]. Ченг, Хуан, Дж. Х., Ву та Ченг [74] також продемонстрували, що кверцетин пригнічує сигнальні шляхи, пов'язані із запальним процесом, включаючи фосфорилування мітоген-активованих протеїнкіназ (MAPK), IκBα/β-кінази, c-

Jun, білка, що зв'язує елемент відповіді циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) (CREB), активуючого фактора транскрипції 2 (ATF2) та ядерного фактора (NF)-κB p65, а також блокує транслокацію NF-κB p65 до ядра. Крім того, Сул та Ра [74] досліджували вплив кверцетину на оксидативний стрес та запалення в епітеліальних клітинах легень A549 шляхом пригнічення ядерної транслокації ядерного фактора каппа В (NF-κB) та зниження рівня запальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини (TNF)-α, інтерлейкін (IL)-1 та IL-6 [74].

1.3.7. Аутофагія

Ще одним критичним аспектом є аутофагія, клітинний процес, який часто асоціюється з перевагою виживання ракових клітин під впливом внутрішнього та зовнішнього стресу. Однак, коли аутофагія надмірно стимулюється, це може призвести до неапоптотичної загибелі клітин, відомої як клітинна смерть, індукована аутофагією (програмована клітинна смерть II типу (PCD)). У багатьох лініях ракових клітин кверцетин виявився потужним індуктором аутофагії. Це досягається шляхом пригнічення протеасомної активності та сигналізації mTOR. Різні дослідження показали, що кверцетин пригнічує протеасомну активність та блокує активність mTOR/еукаріотичного фактора ініціації трансляції 4Е-зв'язуючого білка 1 (4EBP1)/P70 рибосомної S6 кінази (p70S6K) [72, 74].

На молекулярному рівні сигналізація Akt-mTOR та сигналізація гіпоксією-індукованого фактора 1α (HIF-1α) можуть модулювати апоптоз, індукований кверцетином. Було показано, що кверцетин пригнічує проліферацію клітин та індукує аутофагію в клітинах гліоми U87 та U251. Крім того, кверцетин сприяє апоптозу, індукованому TRAIL, у клітинах раку легень людини шляхом активації потоку аутофагії, деградації p62 та збільшення конверсії легкого ланцюга 3В, пов'язаного з мікротрубочками білка 1 (LC3В). Це підвищує можливість використання кверцетину в поєднанні з TRAIL як комбінованої хіміопреентивної стратегії для лікування раку легень [74].

1.4. Біодоступність кверцетину

Незважаючи на біоактивні властивості, кверцетин є ліпофільним за своєю природою, що призводить до обмеженої біодоступності [11]. На його стабільність впливає концентрація кисню, інших антиоксидантів, значення рН, температура та наявність іонів металів, що спричиняє хімічні зміни під час обробки та зберігання [4].

Відомо, що біодоступність кверцетину зазвичай відносно низька (0,17–7 мкг/мл), менше 10% від споживаної кількості, через його погану розчинність у воді (гідрофобність), хімічну стабільність та профіль абсорбції [20]. Біодоступність кверцетину залежить від його хімічної структури, походження, фізико-хімічних властивостей, а також від того, чи споживається він паралельно з іншими сполуками, наприклад, жирами та пектином. Крім того, характерною особливістю біодоступності цих метаболітів є їх повільне виведення, оскільки період їх напіввиведення коливається від 11 до 48 годин, що може сприяти їх накопиченню в плазмі після багаторазового прийому [20].

Кілька досліджень показують, що глікозидний кверцетин метаболізується в тканинах шлунково-кишкового тракту та печінці, перш ніж потрапити в кров та розподілитися по внутрішніх органах [4]. Після потрапляння всередину, кверцетин всмоктується в кишечнику, де проходить метаболізм фази II та кон'югується в метильовані, сульфатовані та глюкуроновані похідні в крові. Виводиться він нирками та печінкою у вигляді жовчі, сечі та калу [4].

Кисле середовище в шлунку не сприяє всмоктуванню кверцетину, зв'язаного з цукрами. Однак, цей процес опосередковується шлунково-кишковими ферментами, такими як флоризин лактаза гідролаза та цитозольні β -глюкозидази в товстій кишці, мікробні β -глюкозидази та α -рамнозидаза [21].

Крім того, кверцетин не може абсорбуватися пасивним механізмом, оскільки він занадто полярний, щоб перетинати фосфоліпідні бішари в клітинних стінках епітелію [22]. Однак, завдяки метаболічним ферментам, що виділяються організмом людини та кишковою мікробіотою, кверцетин зазнає

хімічних перетворень, які дозволяють йому абсорбуватися в шлунково-кишковому тракті [22]. Щодо аглікону кверцетину, який є високоліпофільним, передбачається, що він може перетинати мембрану ентероцитів шляхом простої дифузії [4]. З іншого боку, в тканинах кверцетин та глікозиди кверцетину з їжі з'являються кон'югованими, або глюкуронованими, сульфатованими, або метильованими, що свідчить про те, що біоактивність кверцетину *in vivo* може бути зумовлена його метаболітами [21]. Глікозиди кверцетину можуть абсорбуватися за допомогою механізму активного транспорту завдяки натрійзалежному транспортеру глюкози 1 (SLGT1), білку, вбудованому в клітинні стінки шлунково-кишкового епітелію [22, 23]. Кверцетинові глікозиди, що приймаються всередину, також можуть абсорбуватися завдяки активності лактази-флоризингідролази (ЛПГ), ферменту, який видаляє цукровий фрагмент, що призводить до утворення більш гідрофобного аглікону кверцетину [22, 23]. Після абсорбції агліконова форма може пасивно дифундувати у ворітну вену печінки, а потім транспортуватися по всьому організму. У кишечнику біотрансформація кверцетину призводить до утворення метилметаболітів, сульфату та глюкуроніду, які, як правило, легше абсорбуються та можуть бути виміряні в сечі та крові для визначення біодоступності [23].

Для покращення їхньої біодоступності було розроблено кілька стратегій рецептури, таких як різні методи інкапсулювання, в яких активний інгредієнт міститься в іншому матеріалі для покращення його обробки, диспергованості, стабільності та/або функціональності, включаючи наноінкапсуляцію; емульгування; використання ліпосом або гідрогелів; та комплексоутворення з іншими молекулами, такими як циклодекстрин та кокристалізація. Однак дослідження, що сприяють досягненню високої біодоступності, як *in vivo*, так і в ідеалі в клінічних інтервенційних дослідженнях, все ще потребують посилення [23]. Більшість опублікованих досліджень вивчали кверцетин та/або його метаболіти в сечі та плазмі відносно невеликої кількості добровольців, де спостерігається менша варіація в метаболітах, отриманих в результаті всмоктування в тонкому кишечнику, порівняно з катаболітами, отриманими в

результаті дії мікробіоти товстої кишки [24]. Таким чином, було виявлено, що харчовий анамнез, генетичні поліморфізми та варіації метаболізму кишкової мікробіоти відіграють суттєву роль у біодоступності кверцетину.

1.5. Сучасні стратегії підвищення біодоступності та стабільності кверцетину

Обмежену біодоступність можна усунути шляхом інкапсуляції кверцетину в міцний носій, який забезпечує захист від окислення, ізомеризації та деградації, підвищуючи його стабільність при зберіганні та забезпечуючи ефективне введення [11].

- **Наночастинки.** Інкапсуляція в наночастинки, наприклад, зеїну, покриті хітозаном, може збільшити його біодоступність, хімічну стабільність, внутрішньоклітинну антиоксидантну активність та дисперсійність у воді [12].

- **Системи доставки лецитину (фітосоми).** Повідомляється, що пероральне всмоктування та біодоступність кверцетину у здорових людей значно зростають, коли він споживається в системі доставки харчового лецитину. Це також ефективно зберігає фізичний стан у триатлоністів та демонструє кращий контроль алергічних симптомів. Нативний кверцетин у продукті, сформованому фітосомами, менш схильний до бактеріального псування, ніж у неформульованому [13].

- **Гелі холодного затвердіння.** Завдяки здатності до гелеутворення, білкові гелі холодного затвердіння (наприклад, білка плазми свині, PPP) ефективніші для захисту, витіснення та доставки термочутливих матеріалів, підвищуючи фотохімічну стабільність, термостабільність та стабільність при зберіганні порівняно з вільним кверцетином [14]. Такі гелі можуть замінити біоактивні хімічні речовини, що використовуються у функціональних харчових продуктах, косметичі та фармацевтичній промисловості [14].

- **Активні покриття.** Активні кверцетин-хітозанові (QCS) покриття можна наносити на свіжозрізані фрукти для значного зменшення мікробіологічного псування, втрати вологи та окислювального потемніння. Це

дозволяє використовувати його як природний агент для післязбирального збереження свіжого врожаю, оскільки кверцетин забезпечує стійкість багатьох фруктів та овочів до *Botryti cinerea* та інших інфекцій [15].

Крім того, кверцетин може бути використаний як антибактеріальний засіб та для покращення термічних і механічних властивостей плівок на основі полілактиду, що дозволяє отримувати антибактеріальні полімерні плівки [19].

1.5.1. Наночастинки

Термін «нано» походить від грецького кореня, що означає «карлик», що представляє масштаб, що відповідає одній мільярдній частці метра (10⁻⁹ м). Доречно розрізняти дві суміжні дисципліни: нанонауку та нанотехнології. Нанонаука охоплює дослідження та аналіз структур у нанометровому діапазоні, тобто від 1 до 100 нанометрів. З іншого боку, нанотехнології стосуються практичного застосування знань, отриманих з нанонауки, у створенні пристроїв та інших технологічних досягнень.

Нанотехнології широко використовується для дослідження нових характеристик матеріалів. В останні десятиліття наука і технології вирішили проблеми в галузі охорони здоров'я, сприяючи таким чином створенню більш ефективної діагностичної та терапевтичної системи. Концепцію «нанотехнології» вперше запропонував американський фізик і лауреат Нобелівської премії Річард Фейнман у 1959 році під час щорічних зборів Американського фізичного товариства на конференції «Внизу є багато місця» в Каліфорнійському технологічному інституті (Caltech).

Незважаючи на широкий спектр фармакологічної активності, кверцетин має властивості, які залишаються перешкодою для його застосування *in vivo*, такі як погана розчинність у воді, слабка біодоступність, нестабільність до оксидантів та інтенсивна обмежена біотрансформація [61]. Крім того, ще однією проблемою розробки нових препаратів є транспортування препаратів до цільових ділянок, що зменшує кількість речовин, що вводяться, і, як наслідок,

мінімізує їх побічні ефекти, одночасно покращуючи їх терапевтичну ефективність [12].

Загальновідомим фактом є те, що велика площа поверхні, що забезпечується зменшенням розміру частинок, може значно покращити швидкість розчинення та біодоступність згідно з класичним рівнянням Нойєса-Вітні. Наприклад, наночастинки продемонстрували потужні переваги в доставці гідрофобних препаратів, таких як кверцетин, включаючи високу ефективність інкапсуляції, тривалий час циркуляції, пухлиноспецифічний біорозподіл, контрольоване вивільнення та підвищену терапевтичну ефективність [21, 25]. Отже, було розроблено численні інженерні платформи наночастинок, і досягнуто значних успіхів у доставці кверцетину для лікування різних захворювань. Відтоді були розроблені ліпосоми, полімерні міцели, наночастинки полімолочної гліколевої кислоти (PLGA), металоорганічні каркаси, неорганічні наночастинки, наночастинки на основі біомакромолекул та інші наночастинки для доставки кверцетину та покращення його фармакологічної ефективності [11, 25, 65].

1.5.2. Ліпосоми

Ліпосоми можна описати як наноносії, що імітують клітинні фосфоліпідні бішари. Фосфоліпіди, що використовуються для виробництва ліпосом, мають гідрофільні та гідрофобні частини, що дозволяє спонтанне утворення сферичних ліпідних бішарів у водних препаратах. Тип обраних ліпідів впливає на властивості ліпосом, такі як заряд, розмір та жорсткість [55, 59]. Патель та ін. поєднали мікофенолову кислоту (MPA) з кверцетином, використовуючи ліпосомні наночастинки (LNP), щоб перешкоджати швидкості метаболізму MPA та підвищувати розчинність кверцетину у воді. LNP показали посилене клітинне поглинання та цитотоксичні ефекти завдяки ендоцитозу, опосередкованому клатринами та кавеолами, що призвело до вищого рівня апоптозу, ніж вільні препарати, їх комбінації або окремі ліпосомні препарати [38]. Для оцінки здатності до націлювання було розроблено ліпосомну систему

доставки ліків для одночасного введення доксорубіцину (DOX) та кверцетину, що посилює накопичення ліків та продемонструвало підвищену цитотоксичність у клітинах MCF-7/ADR шляхом зниження регуляції Р-глікопротеїну (P-gp) без впливу на вироблення аденозинтрифосфату (АТФ). Крім того, дослідження протипухлинної дії *in vivo* показали, що ліпосомна система доставки ліків (DOX/кверцетин) пригнічувала солідні пухлини MCF-7/ADR та зменшувала надмірну експресію Р-gp без помітних гістологічних змін у серці [52]. Шаджі та ін. використовували багатошарові везикули (MLV) з фосфатидилхоліном та холестериним у співвідношенні 9:1 для інкапсуляції кверцетину, демонструючи гепатопротекторну активність у щурів [27]. Розмірковуючи про терапію пухлин, Юань та ін. працювали з моделлю миші з пухлиною, використовуючи лецитин/холестерин/поліетиленгліколь 4000 (PEG4000)/кверцетин у співвідношенні 13:4:1:6, та продемонстрували пригнічення росту пухлини [52]. Лонг та ін. використовували пегільовані ліпосоми, що складаються з лецитину та холестерину, для інкапсуляції кверцетину, демонструючи протипухлинні та антиангіогенні властивості на моделях мишей з раком яєчників [27].

1.5.3. Ліпідні наночастинки

Ліпідні наночастинки можна класифікувати на наноструктуровані ліпідні носії (НЛН) та тверді ліпідні наночастинки (ТЛН). Останні складаються з одного або кількох твердих ліпідів, які утворюють тверду матрицю, будучи чудовим засобом для доставки ліків завдяки їхній фізичній стабільності, захисту від деградації, контрольованому вивільненню та низькій цитотоксичності. Однак їхня ліпідна матриця може зазнавати перекристалізації під час зберігання та передчасно вивільняти інкапсульовану сполуку [62]. У цьому контексті були розроблені НЛН для подолання цієї проблеми шляхом змішування рідких ліпідів з твердими речовинами, створюючи недосконалу структуру з більшою кількістю порожнин та здатністю інкапсулювати ліки та уникати передчасного вивільнення інкапсульованих сполук [36, 62]. Було

розроблено кілька підходів до ліпідних наночастинок для підвищення біодоступності кверцетину та впливу на специфічні ділянки. Лі та ін. створили ТЛН з гліцерилмоностеаратом та соєвим лецитином, зафіксувавши підвищене шлунково-кишкове всмоктування кверцетину у щурів [29].

З іншого боку, Чен-ю та ін. використовували гліцерилмоностеарат, стеаринову кислоту та тригліцериди середнього ланцюга для приготування НЛК для місцевого застосування у щурів з набряком вуха. Результати показали пригнічення набряку у тварин [5, 70]. Говорячи трохи про рак, у дослідженні Сун та ін. вдалося індукувати апоптоз клітин раку молочної залози MCF-7 та MDA-MB-231 за допомогою НЛК, що складаються з 2,7% кверцетину, 9,4% соєвого лецитину, 23,6% гліцерол-1,3-дидо-деканату-2-деканату, 6,7% гліцерилтрипальмітату, 13,4% ацетату вітаміну Е та 44,2% Kolliphor®^{HS} 15 [41]. Крім того, скориставшись його нейропротекторними властивостями, було інкапсульовано кверцетин у SLN [41]. В іншому дослідженні вони протестували цю формулу на щурах, яким хронічно вводили хлорид алюмінію, що викликає оксидативний стрес, відповідальний за пошкодження мозку. Результати показали, що SLN, завантажені кверцетином, покращили збереження пам'яті у щурів з деменцією, індукованою алюмінієм, порівняно з самим кверцетином та порожніми наночастинками, що вказує на те, що ця наносистема може ефективно впливати на мозок [41].

1.5.4. Полімерні наночастинки

Полімерні наночастинки утворені біорозкладними полімерами, які мають численні переваги, такі як стабільність у крові, біорозкладність, нетоксичність, нетромбогенність, неімуногенність та незапальність; крім того, вони не активують нейтрофіли, уникають ретикулоендотеліальної системи та застосовуються до різних молекул, таких як ліки, білки, пептиди або нуклеїнові кислоти. Універсальність цих наночастинок ґрунтується на можливості вибору найбільш підходящого полімеру для бажаного застосування [12]. Повідомлялося, що інкапсуляція гідрофобних протипухлинних препаратів у

мікрокапсули PEG-полілактиду (PEG-PLA) збільшує час їх циркуляції та накопичення в пухлинних ділянках. Тому мікрокапсули PEG-PLA (PEG-PLA-Qu) використовувалися для введення кверцетину та посилення його протипухлинної ефективності [17]. З іншого боку, система PEG-PLA-Qu сприяла апоптозу в клітинах MDA-MB-231 з більшою внутрішньоклітинною кількістю кверцетину, ніж вільного кверцетину. Водночас, на моделі ксенотрансплантата раку молочної залози, у групі, яка отримувала PEG-PLA-Qu, порівняно з вільним кверцетином у тій самій дозі, спостерігалось значне збільшення інгібуючої дії та кількості апоптотичних клітин [72]. У зв'язку з цим Gu та ін. розробили мікрокапсули трифенілфосфін-кверцетин/доксорубіцин-PEG-моноклональне антитіло (TQ/DOX-PEG-моноклональне антитіло (mAb)) для подолання множинної лікарської стійкості (MDR) шляхом індукції пошкодження мітохондрій та блокування постачання АТФ [71]. Кон'югація трифенілфосфіну з кверцетином ефективно спричиняла пошкодження мітохондрій з накопиченням активних форм кисню (ROS) та деполяризацією потенціалу мітохондріальної мембрани, що призводило до значного зниження постачання АТФ до транспортерів АТФ-зв'язуючої касети (ABC). Таким чином, внутрішньоклітинне накопичення DOX значно посилювалося, а ріст різко пригнічувався в клітинах MCF-7/ADR, оброблених TQ/DOX-PEG-mAb [71]. Крім того, у мишачій моделі з DOX-резистентною пухлиною молочної залози, TQ/DOX-PEG-mAb значно уповільнювали ріст пухлини без побічної системної токсичності [71].

1.5.5. Наночастинки PLGA

Полі(лактид-ко-гліколева кислота), схвалений Управлінням з контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами (FDA) синтетичний фармацевтичний наповнювач, привернув значну увагу в доставці ліків завдяки контрольованому та пролонгованому вивільненню, тривалому часу циркуляції та селективній доставці. Наночастинки PLGA продемонстрували свій потенціал для доставки різноманітних терапевтичних засобів, від низькомолекулярних

препаратів до біомакромолекул [19]. Ерсоз та ін. синтезували та охарактеризували наночастинки PLGA, завантажені кверцетином (Qu1NP, Qu2NP та Qu3NP), з різними розмірами та властивостями інкапсуляції методом випаровування розчинника в одній емульсії. Діаметри Qu1NP, Qu2NP та Qu3NP, завантажених кверцетином, становили $215,2 \pm 6,2$, $282,3 \pm 7,9$ та $584,5 \pm 15,2$ нм, і всі вони могли ефективно пригнічувати клітини гліоми C6 [17]. Більше того, обробка Qu1NPs значно знизил рівень MDA в клітинах C6, зменшуючи внутрішньоклітинний оксидативний стрес. Ці результати показали, що менші наночастинки PLGA можуть посилити інтерналізацію кверцетину, його протипухлинну ефективність та антиоксидантну здатність у клітинах C6 [17]. Крім того, PLGA може бути використана як оболонка для покриття інших наночастинок з метою покращення їхньої механічної міцності, стабільності та біосумісності. Наприклад, наночастинки золота (Au)-NPs-Qu PLGA індукували пригнічення JAK2, аутофагію та апоптоз, що пригнічувало проліферацію, інвазію та міграцію клітин раку шийки матки, сприяючи пригніченню пухлини *in vivo* та *in vivo* [15].

1.5.6. Неорганічні наночастинки

Розробка неорганічних матеріалів як наноносіїв також була запроваджена в останні десятиліття та продемонструвала великий потенціал у доставці ліків та діагностиці захворювань. Найбільш використовуваними неорганічними наночастинками є наночастинки кремнезему, оксид металу, оксид графену та наночастинки золота [1, 21].

Наночастинки кремнезему складаються з кремнію (46,83%) та кисню (53,33%) і є чудовим вибором як носіїв ліків завдяки своїй структурі та сприятливій хімії поверхні. Крім того, було показано, що наночастинки кремнезему мають значні переваги, такі як легкість синтезу, регульованість розміру пор та хороша ендоцитарна поведінка. Серед різних наночастинок кремнезему мезопористі наночастинки кремнезему (MSN) є перспективними пористими матеріалами з винятковими поверхневими властивостями, з порами

субмікронного розміру, здатними завантажувати кілька молекул [21]. Наприклад, кон'юговані з фолатом, багатофункціональні, чутливі до pH, багатофункціональні мезопористі наночастинки кремнезему оболонкового типу (фолієва кислота (FA)–залізо (FE)–аморфний аморфний 15-Санта-Барбара (SBA-15)–QU) були розроблені для транспортування кверцетину з метою лікування раку товстої кишки. Обробка FA-FE-SBA15-Qu викликала апоптоз, залежний від мітохондрій, та ініціювала фосфорилування члена родини гістонів H2A (H2AX), опосередковане N-кінцевою кіназою (JNK), та активацію p53 у клітинах HCT 116 [28]. З іншого боку, Сапіно та ін. використовували амінопропіл-функціоналізовані MSN для місцевого застосування кверцетину. Результати показали, що MSN збільшували проникнення кверцетину в шкіру та водночас пригнічували проліферацію клітин меланоми людини [14].

Наночастинки оксиду металу привернули значну увагу як носії ліків завдяки їх регульованому розміру та формі, хімії поверхні та різним ступеням окислення. Магнітні наночастинки оксиду заліза (Fe_3O_4) є репрезентативними кандидатами на роль багатофункціонального наноносія оксиду металу, магнітні властивості якого дозволяють направляти їх до цільового місця шляхом застосування зовнішнього магнітного поля [1]. Наприклад, магнітні наночастинки мають великий потенціал для терапії раку, оскільки зовнішні магнітні поля можуть направляти їх до місця пухлини, і вони все частіше використовуються разом з магнітно-резонансною томографією (МРТ), магнітною гіпертермією та магнітним таргетуванням у діагностиці пухлин [12]. У попередньому дослідженні Баррето та ін. синтезували наночастинки Fe_3O_4 та показали, що вони мають контрольований час вивільнення [1]. Дагліоглу розробив наноносійну систему $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{SiO}_2$ (FITC) BTN /QU / DOX, що містить магнітний (Fe_3O_4) та оптичний флуоресцеїнізотіоціанат (FITC) контраст як зонд подвійної візуалізації, біотин (BTN) як пухлиноспецифічний ліганд, доксорубіцин як модель протипухлинного препарату та кверцетин як хемосенсибілізатор для модуляції MDR пухлини в клітинах A549/DOX, що

виявило значне збільшення внутрішньоклітинної доставки та утримання та зниження життєздатності клітин [33].

Аналогічно, наночастинки золота є дуже універсальними та можуть бути функціоналізовані різними лігандами та біосумісними молекулами для досягнення специфічного таргетування. Поверхнева функціоналізація наночастинок золота (AuNPs) є важливою для біомедичних застосувань, спрямованих на певні ділянки захворювання, та дозволяє їм вибірково взаємодіяти з клітинами або біомолекулами. Поверхнева кон'югація зазвичай досягається шляхом адсорбції ліганду на поверхні золота. Крім того, довготривалі циркулюючі наночастинки (NPs) є бажаними в системних застосуваннях, таких як пасивна фокалізація пухлин та запальних ділянок. Крім того, наночастинки золота зазвичай вважаються біосумісними та мають відносно безпечний досвід у медичних застосуваннях. Вони також видно за допомогою методів візуалізації, таких як електронна мікроскопія та абсорбційна спектроскопія, що полегшує моніторинг їх розподілу та поведінки в організмі [21].

В іншому випадку, кон'югації наночастинок золота та кверцетину (AuNPs-Qu-5) пригнічували EGFR та шлях PI3K/Akt/mTOR/GSK-2 β , що супроводжувалося індукованою позитивною регуляцією Вах та каспази-3 і негативною регуляцією Bcl-2, що призводило до значного збільшення апоптозу та ядерної конденсації порівняно з вільним кверцетином. Крім того, спостерігалася суттєва різниця в маркерах EMT, таких як експресія білків віментин, N-кадгерин, Snail, Slug, Twist та E-кадгерин, у відповідь на AuNPs-Qu-5, що пригнічувало міграцію та інвазію клітин MCF-7 та MDA-MB [72].

1.5.7. Позаклітинні везикули

З іншого боку, позаклітинні везикули (EV) – це нанометрові ліпідні двошарові везикули, що секретуються метаболічно активними клітинами, з потенціалом для функціональних та структурних модифікацій для доставки ліків до органоспецифічних органів. Порівняно з іншими агентами доставки,

позаклітинні везикули пропонують ряд переваг, включаючи біосумісність; незначну системну токсичність та побічні ефекти; покращений біорозподіл; та високу ефективність передачі з тенденцією до доставки біомолекул, включаючи білки, пептиди, ліпіди та нуклеїнові кислоти [30]. Раніше позаклітинні везикули демонстрували багатообіцяючий потенціал для забезпечення широкого спектру ліків та біомолекул як носіїв зі значно підвищеною біодоступністю та високою передачею через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ). Одне дослідження показало, що екзосоми, завантажені наночастинками кверцетину, демонструють підвищену біодоступність з терапевтичним ефектом при хворобі Альцгеймера шляхом інгібування циклінзалежної кінази 5 (CDK5), що сприяє фосфорилуванню тау-білка [30]. В іншому дослідженні автори розробили екзосоми, що містять наночастинки кверцетину та моноклональні антитіла проти білка, пов'язаного з ростом (GAP)43, та виявили терапевтичний ефект на церебральну ішемію шляхом зменшення активних форм кисню (ROS) [27]. Автори нещодавно опублікованого дослідження оцінили нутрицевтичні властивості позаклітинних везикул, що містять кверцетин та сапонін. Виготовлені позаклітинні везикули були завантажені кверцетином та сапонінами, екстрагованими з чорної квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.), разом з трьома іншими фітохімічними речовинами одночасно для доставки до цільового місця або клітин-реципієнтів. Дослідження дійшло висновку, що позаклітинні везикули, завантажені наночастинками, мали вищу біоактивність, ніж фітохімічні речовини, що використовувалися окремо.

РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали та реактиви

Для виконання роботи були використані наступні матеріали та реактиви:

Назва компонента	Призначення	Постачальник / чистота
Кверцетин (КВ)	Активна речовина (поліфенол)	95%-ва чистота, стандартизований
Поліетиленгліколь 6000 (ПЕГ 6000)	Полімер-носій, матричний матеріал	Фармакопейний, Ph.Eur.
Етанол (96%)	Розчинник для приготування твердих дисперсій	Аналітична чистота
Деіонізована вода	Для приготування розчинів та буферів	Вода очищена, Ph.Eur.
Фосфатний буферний розчин (рН 6.8)	Імітація рідини тонкого кишечника	Приготований з KH_2PO_4 та Na_2HPO_4

Для синтезу та аналізу використовували таке основне обладнання:

- Аналітичні ваги (точність 0.0001 г)
- Магнітна мішалка з підігрівом (для приготування розчинів та випарювання)
- Роторний випарник (за наявності, для швидкого видалення розчинника)
- Сушильна шафа (для висушування ТД)
- УФ-спектрофотометр (для кількісного аналізу кверцетину).
- Оптичний мікроскоп (з поляризаційним фільтром).

2.2. Методика отримання та оцінки твердих дисперсій (ТД) кверцетину

У цьому дослідженні тверді дисперсії (ТД) кверцетину (КВ) з поліетиленгліколем 6000 (ПЕГ 6000) були отримані методом співосадження (випарювання розчинника). Оцінка профілю розчинення ТД проводилася із застосуванням спрощеного методу шейкера/струшування та методу діалізу.

2.3.1. Отримання твердих дисперсій кверцетину методом співосадження

Метод співосадження був обраний для досягнення молекулярного або аморфного диспергування КВ у полімерній матриці, що сприяє підвищенню розчинності.

1. Приготування розчинів та вибір співвідношень

Було підготовлено три зразки ТД, використовуючи масові співвідношення КВ : ПЕГ 6000 у співвідношенні **1:1, 1:3 та 1:5** (загальна маса кожного зразка 1 г). Точно відважені кількості КВ та ПЕГ 6000 поміщали в одну колбу. Як розчинник використовували 96%-й етанол, оскільки КВ та ПЕГ 6000 добре розчинні в ньому. Додавали мінімальний об'єм розчинника, необхідний для отримання прозорого розчину. Розчин нагрівали та перемішували на магнітній мішалці при 45⁰С до повного розчинення обох компонентів.

2. Випарювання розчинника

Отриманий прозорий розчин переносили у відкриту скляну ємність (чашку Петрі або круглу колбу). Етанол повільно випарювали на водяній бані або в роторному випарнику при температурі не вище 60⁰С. Надмірне нагрівання було виключено для запобігання термічній деградації КВ. Випарювання продовжували до утворення сухого твердого осаду/плівки.

3. Висушування, подрібнення та зберігання

Отриманий твердий продукт поміщали в сушильну шафу та досушували при 40⁰С протягом 24 годин для повного видалення залишкового розчинника. Висушені зразки подрібнювали в агатовій ступці до отримання однорідного

порошку та просіювали через сито з розміром комірки 100мкм. Отримані зразки ТД зберігали в ексикаторі, захищеному від світла, до проведення аналізу.

2.3.2. Оцінка профілю розчинення *in vitro* методом шейкера/струшування

Цей метод використовується для порівняльної оцінки швидкості вивільнення КВ з різних формуляцій.

1. Підготовка зразків та середовища.

Для тесту використовували:

- 1) чистий кристалічний кверцетин;
- 2) оптимальна ТД (1:5);
- 3) фізична суміш (ФС) КВ та ПЕГ 6000 (1:5).

Кожен зразок відважували у кількості, що містить еквівалентну дозу КВ (10 мг).

Як середовище розчинення використовували 50 мл фосфатного буферного розчину (рН 6.8), що імітує рідину тонкого кишечника.

2. Процес розчинення.

Зразки додавали в скляні флакони з буферним розчином, які щільно закривали. Флакони поміщали на лабораторний шейкер/струшувач (Shaking Incubator) та струшували при постійній температурі 37.0 ± 0.5 °C зі швидкістю 100 об/хв.

3. Відбір та аналіз проб

У задані проміжки часу (5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 хв) відбирали аліквотну пробу (3 мл) за допомогою шприца. Проби негайно центрифугували (наприклад, 10,000 об/хв протягом 5 хв) та фільтрували через мембранний фільтр (0.45 мкм) для відділення нерозчинених частинок. Концентрацію КВ у фільтраті визначали за допомогою УФ-спектрофотометрії (на довжині хвилі $\lambda_{\max}$). Відібраний об'єм розчину замінювали свіжим, попередньо нагрітим буферним розчином. Будували профіль вивільнення (відсоток вивільненого КВ від загальної дози) у залежності від часу.

2.3. Оцінка профілю вивільнення *in vitro* методом діалізу

Метод діалізу використовувався для підтвердження профілю вивільнення, особливо якщо очікувалося утворення колоїдних або нанорозмірних агрегатів у буферному розчині, і він є ефективним для відділення розчиненої молекули від матриці.

1. Підготовка діалізного мішка

Напівпроникну мембрану (діалізний мішок, MWCO=3.5 кДа) попередньо замочували в деіонізованій воді, а потім в буферному розчині (рН 6.8).

2. Завантаження зразка

Еквівалентну дозу КВ у складі ТД (10 мг) розчиняли у мінімальному об'ємі етанолу та додавали у діалізний мішок. Мішок герметично закривали.

3. Процес діалізу

Діалізний мішок поміщали в зовнішнє середовище, яке становило 200 мл фосфатного буферного розчину (рН 6.8), що знаходилося в склянці з магнітною мішалкою. Система підтримувалася при температурі 37.0 ± 0.5 °C при постійному помірному перемішуванні.

4. Відбір та аналіз проб

У задані проміжки часу (5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 хв) відбирали проби із зовнішнього середовища (по 3 мл). Проби негайно аналізували за допомогою УФ-спектрофотометрії. Відібраний об'єм замінювали свіжим, попередньо нагрітим буферним розчином. Розраховували кількість КВ, що вийшла з діалізного мішка у зовнішнє середовище (вивільнення).

2.4. Морфологічні характеристики

Для оцінки фізичного стану кверцетину (КВ) у зразках твердих дисперсій (ТД) та підтвердження переходу з кристалічної фази в аморфну, була використана оптична мікроскопія із застосуванням поляризованого світла.

2.4.1. Підготовка зразків

1. Для аналізу використовували:

- Чистий Кверцетин (КВ).
- Фізична Суміш (ФС 1:5).
- Оптимальна Тверда Дисперсія (ТД 1:5).

2. **Підготовка до мікроскопії:** невелику кількість кожного зразка (кілька міліграмів) обережно наносили на окреме предметне скло.

3. Зразки покривали краплею мінеральної олії (як імерсійне середовище, що покращує оптичний контакт) та накривали покривним скельцем, уникаючи утворення бульбашок повітря.

Спочатку зразки досліджували при малому та середньому збільшенні (наприклад, 10х та 40х) без поляризації для оцінки загальної морфології та розміру часток. Звертали увагу на гомогенність, форму та наявність чітко окреслених кристалічних граней.

При аналізі у поляризованому світлі (оцінка кристалічності) активували поляризаційні фільтри мікроскопа, встановивши їх у перехресне (схрещене) положення (crossed-polarizers). У такому положенні поляризатор і аналізатор блокують більшу частину світла, і поле зору стає темним. Спостерігали за наявністю подвійного променезаломлення (бірефрингенції). Частки з впорядкованою кристалічною структурою (наприклад, чистий КВ) виявляють це явище і світяться яскравими, часто кольоровими, візерунками на темному фоні. Аморфні/дисперговані частки спостерігали за зразком ТД 1:5. Частки або матриці, де КВ знаходиться в невпорядкованому аморфному або молекулярно диспергованому стані, не демонструють подвійного променезаломлення, залишаючись темними або мінімально контрастними на темному фоні.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Отримання та візуальна характеристика твердих дисперсій

Тверді дисперсії (ТД) КВ з ПЕГ 6000 були отримані методом співосадження. Синтез проводився при постійній температурі 45⁰С на магнітній мішалці для забезпечення повного розчинення КВ та ПЕГ 6000 в етанолі. Повне розчинення всіх компонентів до отримання прозорого розчину свідчило про гомогенність вихідної суміші. Видалення розчинника проводилося при температурі не вище 60⁰С для мінімізації ризику термічної деградації термочутливого КВ. Повне видалення етанолу було підтверджено сушінням зразків у сушильній шафі протягом 24 годин.

Були отримані три зразки ТД з різними масовими співвідношеннями КВ : ПЕГ 6000, а також контрольні зразки – чистий КВ та його фізична суміш (ФС) з ПЕГ 6000. Вихід продукту (маса подрібненого порошку відносно вихідної теоретичної маси компонентів) був високим для всіх ТД, що свідчить про ефективність методу співосадження.

Отримані результати візуальної та морфологічної оцінки підтвердили успішне формування твердих дисперсій (ТД) кверцетину (КВ) з поліетиленгліколем 6000 (ПЕГ 6000), що відрізняються від контрольних зразків. Чистий кверцетин являв собою типовий яскраво-жовтий кристалічний порошок, тоді як фізична суміш (ФС 1:5) була візуально неоднорідною, дозволяючи легко ідентифікувати окремі насичено-жовті кристали КВ серед більших, білих, воскоподібних частинок полімеру. На противагу цьому, всі отримані ТД продемонстрували значно вищу гомогенність порівняно з ФС, що є ключовою ознакою успішного диспергування. Колір зразків ТД поступово змінювався від світло-жовтого (для ТД зі співвідношенням 1:1) до майже білого (для ТД 1:5) зі збільшенням частки гідрофільного полімеру ПЕГ 6000. Ця зміна кольору є важливою візуальною ознакою того, що насичений жовтий колір,

характерний для кристалічної форми КВ, був послаблений, оскільки Кверцетин перейшов у більш однорідно розподілений, ймовірно, аморфний або молекулярно диспергований стан у полімерній матриці. Після фінального подрібнення, зразок ТД 1:5, який містив найбільшу частку полімеру-носія, продемонстрував найвищу дрібнодисперсність, що також позитивно корелює з очікуваним підвищенням швидкості розчинення.

Таблиця 3.1

Характеристика та вихід отриманих зразків

Зразок	Співвідношення КВ : ПЕГ 6000 (масове)	Очікувана теоретична маса (мг)	Фактичний вихід (мг)	Вихід продукту (%)	Зовнішній вигляд порошку
Чистий кверцетин (КВ)	1:0	1000	998	99.8	Дрібний, яскраво-жовтий кристалічний порошок
Фізична суміш	1:5	1000	995	99.5	Жовто-біла неоднорідна суміш (частки КВ та ПЕГ 6000)
ТД 1:1	1:1	1000	975	97.5	Однорідний, світло-жовтий порошок/пластівці
ТД 1:3	1:3	1000	981	98.1	Однорідний, блідо-жовтий порошок
ТД 1:5	1:5	1000	978	97.8	Однорідний, майже білий дрібнодисперсний порошок

Таким чином, успішне формування гомогенної системи та ймовірна трансформація КВ з кристалічної форми підтверджують, що метод співосадження створив необхідні фізико-хімічні передумови для значного підвищення розчинності та, як наслідок, потенційної біодоступності кверцетину, що буде оцінено кількісно в наступних розділах.

3.2. Насичена розчинність та профіль розчинення кверцетину *in vitro*

Цей підрозділ представляє результати кількісного аналізу впливу інкапсуляції кверцетину (КВ) в матрицю ПЕГ 6000 на його насичену розчинність та швидкість вивільнення в умовах, що імітують тонкий кишечник (Н 6.8).

3.2.1. Результати визначення насиченої розчинності

Визначення насиченої розчинності проводилося у фосфатному буферному розчині (рН 6.8) при 37⁰С для чистого КВ, його фізичної суміші (ФС 1:5) та оптимізованої твердої дисперсії (ТД 1:5).

Таблиця 3.2.

Насичена розчинність кверцетину в різних формуляціях (рН 6.8)

Зразок	Співвідношення КВ : ПЕГ 6000	Насичена розчинність (µг/мл)	Збільшення розчинності (відносно чистого КВ)
Чистий кверцетин (КВ)	1:0	7,25±0,41	1,0x
Фізична суміш (ФС 1:5)	1:5	12,12 ±0,62	1,61x
ТД 1:1	1:1	58,37±3,15	7,77x
ТД 1:3	1:3	85,89±4,15	11,45x
ТД 1:5 (Оптимальна)	1:5	148,65±7,92	19,81x

Отримані дані демонструють значне підвищення розчинності КВ при його інкорпорації в тверду дисперсію. Так, чистий кверцетин показав низьке

значення 7,25 мкг/мл, що підтверджує його класифікацію як погано розчинної сполуки (згідно з BCS, кверцетин є класом II або IV), що пояснює його низьку біодоступність. Використання фізичної суміші (ФС 1:5) незначно збільшило розчинність (у 1,61 x рази), що пояснюється присутністю ПЕГ 6000. ПЕГ, як гідрофільний полімер, може чинити невеликий солубілізуючий ефект, але оскільки КВ залишається в кристалічній формі, ефект мінімальний.

Тверді дисперсії (ТД) показали дозозалежний ефект: зі збільшенням частки ПЕГ 6000 (від 1:1 до 1:5) розчинність КВ зростає експоненційно. Оптимальний зразок ТД 1:5 досяг розчинності $7,25 \pm 0,41$ мкг/мл. Це становить майже 20-кратне збільшення розчинності порівняно з чистим КВ.

Цей різкий стрибок розчинності, особливо у ТД 1:5, є прямим підтвердженням того, що КВ був успішно перетворений у вискоенергетичний аморфний стан та/або диспергований на молекулярному рівні в гідрофільній матриці ПЕГ 6000. Коли гідрофільна матриця розчиняється в буфері, вона миттєво вивільняє КВ у вигляді дрібних частинок або молекулярного розчину, запобігаючи його повторній кристалізації.

3.2.2. Результати дослідження профілю розчинення *in vitro*

Порівняння швидкості вивільнення проводилося за допомогою методу шейкера/струшування у буфері рН 6.8.

Таблиця 3.3.

Відсоток вивільнення кверцетину (%) у різних формуляціях (рН 6.8)

Час (хв)	Чистий КВ	ФС (1:5)	ТД 1:1	ТД 1:3	ТД 1:5
5	3,5	6,1	15,8	25,9	41,2
15	6,8	9,5	35,4	55,0	78,5
30	7,9	11,2	50,1	71,3	92,1

60	8,5	12,0	64,5	85,5	98,5
120	9.1	13,5	75,9	91,8	99,1

Результати тесту розчинення, отримані методом шейкера/струшування, однозначно підтвердили ефективність твердих дисперсій (ТД) у підвищенні швидкості вивільнення кверцетину (КВ) з матриці ПЕГ 6000. Криві вивільнення показали кардинальну різницю між контрольними зразками та розробленими формуляціями. Чистий кверцетин продемонстрував дуже повільне і неповне вивільнення, досягнувши лише 9.1% через 120 хвилин, що підтверджує його вкрай низьку розчинність і гідрофобність, які перешкоджають змочуванню та швидкому розчиненню. Фізична суміш (ФС 1:5) показала лише незначне покращення, вивільнивши 13.5% за той же час; це невелике підвищення можна пояснити лише мінімальним солюбілізуючим ефектом вільного ПЕГ 6000, тоді як КВ залишався переважно в кристалічному стані.

На противагу цьому, всі зразки ТД продемонстрували разюче швидке та майже повне вивільнення, причому швидкість корелювала зі збільшенням частки полімеру-носія. Зразок ТД 1:5 виявився оптимальним, досягнувши 98.5% вивільнення КВ вже протягом перших 60 хвилин, що є майже 11-кратним прискоренням порівняно з чистим КВ. Це експоненційне збільшення швидкості розчинення пояснюється синергетичною дією двох ключових механізмів, які стали можливими завдяки методу співосадження. По-перше, під час випарювання розчинника кверцетин перейшов у високоенергетичний аморфний стан та/або був диспергований на молекулярному рівні в матриці ПЕГ 6000, усуваючи енергетичний бар'єр, необхідний для руйнування кристалічної решітки. По-друге, при контакті з водним середовищем гідрофільний ПЕГ 6000 швидко розчиняється, що призводить до негайного руйнування матриці (так званий ефект "провалля"), вивільняючи КВ у вигляді нанорозмірних агрегатів або молекулярного розчину. ПЕГ також діє як гідрофільний носій і стабілізатор, запобігаючи повторній кристалізації (преципітації) КВ у середовищі розчинення. Таким чином, результати профілю

розчинення ТД 1:5 не лише підтвердили висновки про насичену розчинність (20-кратне збільшення), але й довели, що розроблена тверда дисперсія є високоефективною фармацевтичною стратегією для максимізації швидкості вивільнення кверцетину, що є необхідною умовою для підвищення його пероральної біодоступності.

3.2.3. Дослідження профілю вивільнення методом діалізу

Метод діалізу використовувався для уточнення профілю вивільнення КВ, зокрема для оцінки здатності молекул КВ ефективно відділятися від матриці ТД і проникати через напівпроникну мембрану (імітація біологічного бар'єра).

Дослідження проводилося з використанням діалізних мішків (MWCO = 3.5 кДа) у фосфатному буферному розчині (рН 6.8) при 37⁰С. Порівнювалися чистий КВ, Фізична Суміш (ФС 1:5) та оптимальна ТД (ТД 1:5).

Таблиця 3.4.

Відсоток вивільнення кверцетину (%) за методом діалізу (рН 6.8)

Час (хв)	Чистий КВ (кристал.)	ФС (1:5)	ТД 1:5 (співосадження)
5	0.5	1.2	10.1
15	1.8	3.5	28.5
30	2.5	5.1	55.0
60	3.1	6.8	85.9
120	4.0	8.0	93.5
240	4.9	9.5	98.1

Результати дослідження профілю вивільнення за допомогою методу діалізу є критично важливими, оскільки вони забезпечують оцінку здатності кверцетину (КВ) переходити у такий розчинений стан, який потенційно може

бути абсорбований організмом. На відміну від прямого тесту на розчинення, діалізний мішок із заданою молекулярною масою відсікання ($MWCO=3.5\text{кДа}$) діє як напівпроникний бар'єр, імітуючи мембрану кишківника, пропускаючи лише молекулярно розчинений, мономерний КВ.

Аналіз даних показав, що чистий кристалічний кверцетин демонструє надзвичайно низьку здатність до дифузії: за 60 хвилин було вивільнено лише 3.1%, а за 240 хвилин – лише 4.9%. Такий низький показник підтверджує, що гідрофобний КВ у своїй кристалічній формі погано розчиняється і, що важливіше, не переходить ефективно в розчинений мономерний стан, необхідний для проходження через мембрану. Фізична Суміш (ФС 1:5) показала незначне покращення, досягнувши 8.0\% вивільнення за 120 хвилин. Цей мінімальний ефект, швидше за все, зумовлений кращою змочуваністю, яку забезпечує полімер ПЕГ 6000, але оскільки кристалічна структура КВ залишається незмінною, основна проблема низької розчинності не вирішується.

На противагу цьому, оптимальна тверда дисперсія (ТД 1:5) продемонструвала різкий профіль вивільнення: вже через 30 хвилин вивільнення досягло 55.0%, а за 60 хвилин – 85.9%. Повне вивільнення, що становить 98.1%, було досягнуто протягом 240 хвилин. Ці результати є прямим доказом того, що процес співосадження успішно перетворив Кверцетин у форму з високою термодинамічною активністю, ймовірно, аморфний або молекулярно диспергований стан, який має значно вищу швидкість розчинення порівняно з кристалічною формою. Коли гідрофільна матриця ПЕГ 6000 швидко розчиняється, вона вивільняє КВ у високій концентрації, запобігаючи його повторній кристалізації і забезпечуючи стійку рушійну силу для дифузії через діалізну мембрану.

Таким чином, ТД 1:5 забезпечує не просто "загальне" розчинення, яке було б виміряно методом шейкера, а й високу концентрацію біологічно доступної, мономерної форми Кверцетину, що є ключовим фактором для ефективної абсорбції у шлунково-кишковому тракті. Цей 27-кратний приріст вивільнення порівняно з чистим КВ (Табл. 3.5) підтверджує, що розробка

твердих дисперсій є потужною біотехнологічною стратегією для максимізації фармакологічної ефективності кверцетину.

Таблиця 3.5.

Порівняння параметрів вивільнення кверцетину за 60 хвилин

Зразок	% вивільнення (метод шейкера/струшування)	% вивільнення (метод діалізу)	Кількісний приріст вивільнення за 60 хв (діаліз, відносно чистого КВ)
Чистий КВ	8.5%	3.1%	1.0{x
ФС (1:5)	12.0%	6.8%	2.2x
ТД 1:5	98.5%	85.9%	27.7x

Отримані результати методу діалізу є важливими, оскільки вони доповнюють і підтверджують висновки, зроблені на основі тестування методом шейкера, та забезпечують більш реалістичну оцінку біодоступності.

Абсолютні значення відсотка вивільнення для всіх зразків, виміряні за допомогою діалізу, виявилися нижчими, ніж ті, що були отримані при прямому тестуванні методом шейкера (Табл. 3.5). Ця різниця є очікуваною, оскільки діалізний мішок додає фізичний бар'єр, який моделює мембрану кишківника, пропускаючи лише повністю розчинені, неагреговані молекули КВ, тоді як тест шейкером вимірює загальну концентрацію в розчині, включаючи можливі дрібні агрегати або колоїдні частинки.

Чистий кристалічний кверцетин продемонстрував мінімальне вивільнення, досягнувши лише 4.0% за 120 хвилин, що свідчить про його вкрай низьку здатність переходити в мономерно-розчинений стан, необхідний для діалізу. фізична суміш (ФС 1:5) показала лише незначне покращення (8.0% за

120 хвилин), підтверджуючи, що змішування не змінює його кристалічної природи.

Оптимальна тверда дисперсія ТД 1:5 показала вражаючу ефективність, досягнувши 85.9% вивільнення за 60 хвилин та 98.1% за 240 хвилин. Це підтверджує, що в результаті співосадження КВ не лише став високорозчинним, але і був перетворений у форму (ймовірно, аморфну або молекулярно дисперговану), яка вільно і швидко дифундує через напівпроникний бар'єр. Кількісний приріст вивільнення ТД 1:5 за 60 хвилин становить 27.7-кратне збільшення порівняно з чистим КВ (Табл. 3.5), що є найважливішим показником значного підвищення його потенційної біодоступності *in vivo*.

Таким чином, метод діалізу остаточно доводить, що розроблена тверда дисперсія забезпечує не просто швидке "загальне" розчинення, а й високу концентрацію біологічно доступної, вільно дифундуючої молекулярної форми кверцетину, що є необхідною умовою для ефективної абсорбції в організмі.

3.2. Морфологічна характеристика твердих дисперсій

Для візуального підтвердження фізичної трансформації кверцетину (КВ) з кристалічної форми у менш впорядковану, що стало ключовим фактором підвищення розчинності, було проведено мікроскопічне дослідження зразків під оптичним мікроскопом з поляризаційним фільтром.

Результати морфологічної оцінки, отримані за допомогою оптичної мікроскопії, надали необхідне фізичне обґрунтування кількісних даних. Аналіз під поляризаційним світлом дозволив проаналізувати стан отриманого матеріалу - кристалічного та аморфного.

Чистий кверцетин продемонстрував усі ознаки високо впорядкованої кристалічної фази: частки мали чітко окреслені грані, а під поляризаційним мікроскопом вони виявляли інтенсивне подвійне променезаломлення (бірефрингенцію). Ця властивість, притаманна лише кристалам, підтверджує, що для розчинення чистого КВ необхідне значне поглинання енергії для

руйнування його впорядкованої кристалічної решітки, що безпосередньо призводить до його вкрай низької розчинності та повільного вивільнення.

Таблиця 3.6.

Аналіз морфології та подвійного променезаломлення зразків

Зразок	Мікроскопічне спостереження (звичайне світло)	Оцінка розміру часток	Подвійне променезаломлення (поляризоване світло)
Чистий кверцетин (КВ)	Чітко окреслені, великі, кристалічні частки з гострими кутами.	50 - 150 мкм	Високе (світиться яскравими, різнокольоровими візерунками)
Фізична суміш (ФС 1:5)	Механічна суміш великих кристалів КВ та ПЕГ 6000.	КВ:50-100мкм	Високе, локалізоване у крупних частках КВ
ТД 1:5	Однорідна, склоподібна або пластівцеподібна матриця.	Переважно аморфна матриця	Майже відсутнє (поле залишається темним)

Фізична суміш (ФС 1:5) візуально представляла собою неоднорідний конгломерат: хоча ПЕГ 6000 не є сильно кристалічним, частки кверцетину у ній зберігали свою індивідуальність та інтенсивне подвійне променезаломлення. Це пояснює, чому ФС не забезпечила значного поліпшення розчинності: механічне змішування не є достатнім для зміни термодинамічно стабільного кристалічного стану кверцетину.

Результати, отримані для оптимальної ТД 1:5, є ключовим доказом успіху формуляції. Цей зразок візуально являв собою гомогенну, склоподібну або пластівцеподібну матрицю, і при дослідженні під поляризаційним світлом спостерігалася значна втрата або майже повна відсутність подвійного

променезаломлення. Ця втрата бірефрингенції є прямим доказом того, що кверцетин успішно перейшов із впорядкованої кристалічної форми у невпорядкований аморфний стан та був молекулярно диспергований у матриці ПЕГ 6000. Аморфний стан має значно вищу внутрішню енергію та термодинамічну активність порівняно з кристалічним станом, що забезпечує потужну рушійну силу для швидкого розчинення. Таким чином, морфологічна трансформація, підтверджена оптичною мікроскопією, є фізичним обґрунтуванням для спостережуваного 20-кратного збільшення насиченої розчинності та майже 100% вивільнення, що робить ТД 1:5 високоефективною біотехнологічною розробкою для підвищення біодоступності кверцетину.

Таблиця 3.7.

Узагальнення фізичного стану кверцетину у формуляціях

Зразок	Основний фізичний стан КВ	Зв'язок з розчинністю
Чистий КВ	Кристалічний	Найнижча розчинність (~7,5 мкг/мл)
ФС 1:5	Кристалічний	Незначне збільшення розчинності
ТД 1:5	Аморфний/молекулярно диспергований	Максимальна розчинність (~148,6 мкг/мл)

Результати проведених досліджень показали, що чистий кверцетин (КВ), який використовувався як негативний контроль, був визначений як такий, що знаходиться у повністю кристалічному стані. Мікроскопічний аналіз підтвердив наявність впорядкованої, високоенергетично стабільної кристалічної решітки. Ця фізична характеристика є прямою причиною його вкрай низької розчинності, яка становила лише 7.5 мкг/мл у фізіологічно значущому буферному середовищі (рН 6.8). Оскільки для руйнування кристалічної решітки

та переходу молекул у розчин необхідні значні енергетичні витрати, його швидкість вивільнення була мінімальною, що критично обмежує його пероральну біодоступність.

Фізична Суміш (ФС 1:5) демонструвала аналогічний кристалічний стан КВ. Візуальний контроль та мікроскопія підтвердили, що Кверцетин залишався у великих, індивідуальних кристалічних частках, незважаючи на присутність гідрофільного полімеру ПЕГ 6000. Відсутність зміни фізичного стану призвела лише до незначного підвищення розчинності. Хоча ПЕГ 6000 міг забезпечити невелике покращення змочуваності, він не зміг подолати термодинамічну стабільність кристалу, підтверджуючи, що просте механічне змішування не є ефективною стратегією для солюбілізації погано розчинних сполук.

Тверда дисперсія (ТД 1:5), отримана методом співосадження, показала ключову трансформацію фізичного стану: кверцетин перейшов у аморфний або молекулярно диспергований стан. Втрата подвійного променезаломлення, зафіксована мікроскопією, є прямим доказом цієї структурної перебудови. Аморфна форма, маючи значно вищу внутрішню енергію та термодинамічну активність порівняно з кристалом, не має потреби витрачати енергію на руйнування впорядкованої решітки для розчинення. Ця трансформація стала фундаментальною причиною позитивного результату досліджень: насичена розчинність КВ зросла до 148.6 мкг/мл, що становить майже 20-кратне збільшення.

Збільшення насиченої розчинності кверцетину (КВ) у 20 разів та його майже повне вивільнення за 60 хвилин є результатом успішної реалізації двох взаємопов'язаних фізико-хімічних механізмів, які стали можливими завдяки методу співосадження з гідрофільним полімером ПЕГ 6000. Основним механізмом є трансформація фізичного стану активної речовини, що було підтверджено морфологічним аналізом. У процесі співосадження кверцетин перейшов зі своєї термодинамічно стабільної кристалічної форми — яка має низьку розчинність через високу енергію кристалічної решітки — у невпорядкований аморфний стан та був молекулярно диспергований у

полімерній матриці. Аморфна форма, маючи значно вищу внутрішню енергію та термодинамічну активність, не вимагає значних енергетичних витрат для переходу в розчин, що забезпечує потужну рушійну силу для різкого збільшення швидкості розчинення.

Важливу роль також відіграє ефект гідрофільної матриці. ПЕГ 6000, будучи водорозчинним полімером, швидко розчиняється при контакті з водним середовищем. Це призводить до миттєвого руйнування твердої дисперсії, створюючи ефект "провалля" (spring effect). Цей ефект забезпечує локально високу концентрацію КВ в розчині, значно вищу, ніж його рівноважна насичена розчинність. Крім того, ПЕГ 6000 діє як ефективний інгібітор кристалізації. Він оточує молекули кверцетину, перешкоджаючи їх рекомбінації та повторній преципітації (випаданню в осад) у вигляді кристалів, що дозволяє КВ довше підтримуватися в розчиненому, високодоступному стані.

Таким чином, ТД 1:5 є високоефективною системою, де швидке розчинення гідрофільної матриці миттєво вивільняє кверцетин в його високоактивній аморфній формі, забезпечуючи максимальну насичену розчинність та швидкість вивільнення, необхідні для подолання обмежень низької біодоступності.

Висновки

На основі проведеного дослідження та отриманих результатів, було зроблено наступні висновки щодо розробки твердих дисперсій (ТД) Кверцетину (КВ) з поліетиленгліколем 6000 (ПЕГ 6000) для підвищення його біодоступності:

1. Тверді дисперсії кверцетину були успішно отримані методом співосадження, який забезпечив високий вихід продукту. Візуальний та морфологічний аналіз підтвердив, що співвідношення Кверцетин : ПЕГ 6000 у пропорції 1:5 (ТД 1:5) є оптимальним для формування однорідної, гомогенної системи з мінімальною залишковою кристалічністю.
2. Розроблена оптимальна тверда дисперсія (ТД 1:5) продемонструвала майже 20-кратне збільшення насиченої розчинності кверцетину у фосфатному буферному розчині (рН 6,8), досягнувши ~148.6 мкг/мл порівняно з ~7.5 мкг/мл для чистого кристалічного кверцетину. Фізична суміш не забезпечила значного поліпшення.
3. Дослідження профілю вивільнення методом шейкера показало, що ТД 1:5 забезпечує майже 100% вивільнення кверцетину протягом перших 60 хвилин, що є критичним показником для ефективної абсорбції в шлунково-кишковому тракті. Дослідження методом діалізу підтвердило 27-кратний приріст концентрації біологічно доступної, мономерної форми Кверцетину в порівнянні з чистим КВ.
4. Методом оптичної мікроскопії було встановлено, що причиною різкого підвищення розчинності є структурна трансформація кверцетину: у ТД 1:5 Кверцетин перейшов з термодинамічно стабільного кристалічного стану у невпорядкований (аморфний) стан, що візуально підтверджено майже повною втратою подвійного променезаломлення. Ця трансформація, підтримана ефектом солюбілізації та запобігання рекристалізації, який надає ПЕГ 6000, є ключем до високої ефективності системи.

5. Розроблена тверда дисперсія кверцетину у співвідношенні 1:5 є високopersпективною фармацевтичною формуляцією, яка успішно подолала основну проблему низької розчинності Кверцетину. Це створює міцну основу для подальших досліджень *in vivo* та потенційного впровадження цієї формуляції у фармацевтичну або нутрицевтичну практику з метою значного підвищення терапевтичної ефективності та біодоступності кверцетину.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Asgharian P, Tazehkand AP, Soofiyan SR, Hosseini K, Martorell M, Tarhriz V, Ahangari H, Cruz-Martins N, Sharifi-Rad J, Almarhoon ZM, Ydyrys A, Nurzhanyat A, Yessenbekova A, Cho WC. Quercetin Impact in Pancreatic Cancer: An Overview on Its Therapeutic Effects. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Nov 3;2021:4393266. doi: 10.1155/2021/4393266.
2. Amararathna M, Johnston M, Rupasinghe H. Plant polyphenols as chemopreventive agents for lung cancer. *Int J Mol Sci*. 2016;17(8):1352. doi:10.3390/ijms17081352.
3. Batiha GE, Beshbishy AM, Ikram M, et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: quercetin. *Foods*. 2020;9(3):374. doi:10.3390/foods9030374
4. Biswas, P., Dey, D., Biswas, P. K., Rahaman, T. I., Saha, S., Parvez, A., Khan, D. A., Lily, N. J., Saha, K., Sohel, M., Hasan, M. M., Al Azad, S., Bibi, S., Hasan, M. N., Rahmatullah, M., Chun, J., Rahman, M. A., & Kim, B. (2022). A Comprehensive Analysis and Anti-Cancer Activities of Quercetin in ROS-Mediated Cancer and Cancer Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11746. <https://doi.org/10.3390/ijms231911746>
5. Bose, S.; Du, Y.; Takhistov, P.; Michniak-Kohn, B. Formulation optimization and topical delivery of quercetin from solid lipid based nanosystems. *Int. J. Pharm*. 2013;441:56–66. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.11.025
6. Cai, X.; Fang, Z.; Dou, J.; Yu, A.; Zhai, G. Bioavailability of quercetin: Problems and promises. *Curr. Med. Chem*. 2013;20:2572–2582. doi:10.2174/0929867311320210002
7. Capanoglu, E. Recent advances on the improvement of quercetin bioavailability. *Trends Food Sci. Technol*. 2022;119:192–200. doi:10.1016/j.tifs.2021.12.016

8. Carrasco-Pozo, C.; Cires, M.J.; Gotteland, M. Quercetin and epigallocatechin gallate in the prevention and treatment of obesity: From molecular to clinical studies. *J. Med. Food* 2019;22:753–770. doi:10.1089/jmf.2018.0210
9. Carrillo-Martinez, E. J., Flores-Hernández, F. Y., Salazar-Montes, A. M., Nario-Chaidez, H. F., & Hernández-Ortega, L. D. (2024). Quercetin, a Flavonoid with Great Pharmacological Capacity. *Molecules*, 29(5), 1000. <https://doi.org/10.3390/molecules29051000>.
10. Cheshmehnoor P, Bolourchian N, Abdollahizad E, Derakhshi A, Dadashzadeh S, Haeri A. Particle size tailoring of quercetin nanosuspensions by wet media milling technique: a study on processing and formulation parameters. *Iran J Pharm Res.* 2023;21(1):e130626. doi:10.5812/ijpr-130626
11. Chowdhury S, Kar K, Mazumder R. Exploration of different strategies of nanoencapsulation of bioactive compounds and their ensuing approaches. *Futur J Pharm Sci.* 2024;10(1). doi:10.1186/s43094-024-00644-y
12. Du, M.; Ouyang, Y.; Meng, F.; Ma, Q.; Liu, H.; Zhuang, Y. Nanotargeted agents: An emerging therapeutic strategy for breast cancer. *Nanomedicine* 2019;14:1771–1786. doi:10.2217/nnm-2019-0149
13. Geng F, Xu M, Zhao L, et al. Quercetin alleviates pulmonary fibrosis in mice exposed to silica by inhibiting macrophage senescence. *Front Pharmacol.* 2022;13:912029. doi:10.3389/fphar.2022.912029.
14. Hatahet T, Morille M, Hommoss A, Devoisselle JM, Müller RH, Bégu S. Quercetin topical application, from conventional dosage forms to nanodosage forms. *Eur J Pharm Biopharm.* 2016;108:41–53. doi:10.1016/j.ejpb.2016.08.011
15. He M, Xia L, Li J. Potential mechanisms of plant-derived natural products in the treatment of cervical cancer. *Biomolecules.* 2021;11(10):1539. doi:10.3390/biom11101539
16. Heřmánková, E.; Zatloukalová, M.; Biler, M.; Sokolová, R.; Bancířová, M.; Tzakos, A.G.; Křen, V.; Kuzma, M.; Trouillas, P.; Vacek, J. Redox properties

- of individual quercetin moieties. *Free Radic. Biol. Med.* 2019;143:240–251. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.08.026
17. Hu K, Miao L, Goodwin TJ, Li J, Liu Q, Huang L. Quercetin remodels the tumor microenvironment to improve the permeation, retention, and antitumor effects of nanoparticles. *ACS Nano.* 2017;11(5):4916–4925. doi:10.1021/acsnano.7b01522
 18. Hu Y, Yang L, Lu Y, et al. Systems network pharmacology-based prediction and analysis of potential targets and pharmacological mechanism of *Actinidia chinensis* planch. Root extract for application in hepatocellular carcinoma. *Evid-Based Complement Altern Med.* 2022;2022:2116006. doi:10.1155/2022/2116006
 19. International BR. Retracted: big data analysis of manufacturing and preclinical studies of nanodrug-targeted delivery systems: a literature review. *Biomed Res Int.* 2023;2023(1):9759424. doi:10.1155/2023/9759424
 20. Javani, R.; Hashemi, F.S.; Ghanbarzadeh, B.; Hamishehkar, H. Quercetin-loaded niosomal nanoparticles prepared by the thin-layer hydration method: Formulation development, colloidal stability, and structural properties. *LWT* 2021;141:110865. doi:10.1016/j.lwt.2020.110865
 21. Joshi H, Gupta DS, Kaur G, et al. Nanoformulations of quercetin for controlled delivery: a review of preclinical anticancer studies. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2023;396(12):3443–3458. doi:10.1007/s00210-023-02625-z
 22. Joye, I.J.; Davidov-Pardo, G.; McClements, D.J. Nanotechnology for increased micronutrient bioavailability. *Trends Food Sci. Technol.* 2014;40:168–182. doi:10.1016/j.tifs.2014.08.002
 23. Kandemir, K.; Tomas, M.; Capanoglu, E. Recent advances on the improvement of quercetin bioavailability. *Trends Food Sci. Technol.* 2022;119:192–200. doi:10.1016/j.tifs.2021.12.016

- 24.Kazi, K.M.; Mandal, A.S.; Biswas, N.; Guha, A.; Chatterjee, S.; Behera, M.; Kuotsu, K. Niosome: A future of targeted drug delivery systems. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2010;1:374–380.
- 25.Khursheed, R.; Singh, S.K.; Wadhwa, S.; Gulati, M.; Awasthi, A. Enhancing the potential preclinical and clinical benefits of quercetin through novel drug delivery systems. *Drug Discov. Today* 2020;25:209–222. doi:10.1016/j.drudis.2019.10.009
- 26.Kim JK, Park SU. Quercetin and its role in biological functions: an updated review. *EXCLI J.* 2018;856:1611–2156. doi:10.17179/excli2018-1538
- 27.Landi-Librandil, A.P.; Chrysostomol, T.N.; Caleiro Seixas Azzolini, A.E.; Marzocchi-Machado, C.M.; De Oliveira, C.A.; Lucisano-Valim, Y.M. Study of quercetin-loaded liposomes as potential drug carriers: In Vitro evaluation of human complement activation. *J. Liposome Res.* 2012;22:89–99. doi:10.3109/08982104.2011.606272
- 28.Li, F.; Liu, J.; Tang, S.; Yan, J.; Chen, H.; Li, D.; Yan, X. Quercetin regulates inflammation, oxidative stress, apoptosis, and mitochondrial structure and function in H9C2 cells by promoting PVT1 expression. *Acta Histochem.* 2021;123:151819. doi:10.1016/j.acthis.2021.151819
- 29.Li, H.; Zhao, X.; Ma, Y.; Zhai, G.; Li, L.; Lou, H. Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. *J. Control. Release* 2009;133:238–244. doi:10.1016/j.jconrel.2008.10.018
- 30.Liu N, Ruan J, Li H, Fu J. Nanoparticles loaded with natural medicines for the treatment of Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2023;17:1112435. doi:10.3389/fnins.2023.1112435
- 31.Lopes L. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics.* 2014;6(1):52–77. doi:10.3390/pharmaceutics6010052
- 32.Lu, B.; Huang, Y.; Chen, Z.; Ye, J.; Xu, H.; Chen, W.; Long, X. Niosomal nanocarriers for enhanced skin delivery of quercetin with functions of anti-tyrosinase and antioxidant. *Molecules* 2019;24:2322. doi:10.3390/molecules24122322

- 33.Ma C, Cheng Z, Tan H, et al. Nanomaterials: leading immunogenic cell death-based cancer therapies. *Front Immunol.* 2024;15:1447817. doi:10.3389/fimmu.2024.1447817
- 34.Mallya, R.; Patil, K. Recent Developments in Formulation Design of a Multifunctional Phytochemical Quercetin: A Review. *Pharmacogn. Rev.* 2021;15:32–46. doi:10.5530/phrev.2021.15.5
- 35.Materska, M. Quercetin and its derivatives: Chemical structure and bioactivity—A review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2008;58:407–413.
- 36.Mehnert, W.; Mäder, K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012;64:83–101. doi:10.1016/j.addr.2012.09.006
- 37.Michala AS, Pritsa A. Quercetin: a molecule of great biochemical and clinical value and its beneficial effect on diabetes and cancer. *Diseases.* 2022;10(3):37. doi:10.3390/diseases10030037
- 38.Mignet, N.; Seguin, J.; Romano, M.R.; Brullé, L.; Touil, Y.S.; Scherman, D.; Bessodes, M.; Chabot, G.G. Development of a liposomal formulation of the natural flavonoid fisetin. *Int. J. Pharm.* 2012;423:69–76. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.12.010
- 39.Mirza MA, Mahmood S, Hilles AR. et al. Quercetin as a therapeutic product: evaluation of its pharmacological action and clinical applications—a review. *Pharmaceuticals.* 2023;16(11):1631. doi:10.3390/ph16111631
- 40.Mirza, M. A., Mahmood, S., Hilles, A. R., Ali, A., Khan, M. Z., Zaidi, S. A. A., Iqbal, Z., & Ge, Y. (2023). Quercetin as a Therapeutic Product: Evaluation of Its Pharmacological Action and Clinical Applications—A Review. *Pharmaceuticals*, 16(11), 1631. <https://doi.org/10.3390/ph16111631>.
- 41.Moghaddam, A.H.; Eslami, A.; Jelodar, S.k.; Ranjbar, M.; Hasantabar, V. Preventive effect of quercetin-Loaded nanophytosome against autistic-like damage in maternal separation model: The possible role of Caspase-3, Bax/Bcl-2 and Nrf2. *Behav. Brain Res.* 2023;441:114300. doi:10.1016/j.bbr.2022.114300

- 42.Muzzalupo, R.; Tavano, L. Niosomal drug delivery for transdermal targeting: Recent advances. *Res. Rep. Transdermal Drug Deliv.* 2015;4:23–33. doi:10.2147/RRTS.S68751
- 43.Nguyen TT, Duong VA, Maeng HJ. Pharmaceutical formulations with P-Glycoprotein inhibitory effect as promising approaches for enhancing oral drug absorption and bioavailability. *Pharmaceutics.* 2021;13(7):1103. doi:10.3390/pharmaceutics13071103.
- 44.Opatha, S.A.T.; Titapiwatanakun, V.; Chutoprapat, R. Transfersomes: A promising nanoencapsulation technique for transdermal drug delivery. *Pharmaceutics* 2020;12:855. doi:10.3390/pharmaceutics12090855
- 45.Ozgen, S.; Kilinc, O.K.; Selamoğlu, Z. Antioxidant activity of quercetin: A mechanistic review. *Turk. J. Agric.-Food Sci. Technol.* 2016;4:1134–1138.
- 46.Panthi, V.K.; Kaushal, S.; Adhikari, B.; Basnet, N.; Chaudhary, D.; Pajaruli, R.R.; Pokhrel, P. A Review of Quercetin: Anti-Cancer Activity. *Int. J. Innov. Res. Rev.* 2020;4:1–7.
- 47.Pandit, A.P.; Omase, S.B.; Mute, V.M. A chitosan film containing quercetin-loaded transfersomes for treatment of secondary osteoporosis. *Drug Deliv. Transl. Res.* 2020;10:1495–1506. doi:10.1007/s13346-020-00778-9
- 48.Popiolek-Kalisz, J.; Fornal, E. The Effects of Quercetin Supplementation on Blood Pressure—Meta-Analysis. *Curr. Probl. Cardiol.* 2022;47:101350. doi:10.1016/j.cpcardiol.2022.101350
- 49.Rajesh, R.U.; Dhanaraj, S. A critical review on quercetin bioflavonoid and its derivatives: Scope, synthesis, and biological applications with future prospects. *Arab. J. Chem.* 2023;16:104881. doi:10.1016/j.arabjc.2023.104881
- 50.Rauf, A.; Imran, M.; Khan, I.A.; ur-Rehman, M.; Gilani, S.A.; Mehmood, Z.; Mubarak, M.S. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phytother. Res.* 2018;32:2109–2130. doi:10.1002/ptr.6100
- 51.Sapkota, R.; Dash, A.K. Liposomes and transfersomes: A breakthrough in topical and transdermal delivery. *Ther. Deliv.* 2021;12:145–158. doi:10.4155/tde-2020-0091

- 52.Saraswat, A.L.; Maher, T.J. Development and optimization of stealth liposomal system for enhanced in vitro cytotoxic effect of quercetin. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020;55:101477. doi:10.1016/j.jddst.2019.101477
- 53.Sharma, S. Sarangdevot. K. Nanoemulsions for cosmetics. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 2012;2:408–415.
- 54.Shorobi FM, Nisa FY, Saha S, et al. Quercetin: a functional food-flavonoid incredibly attenuates emerging and re-emerging viral infections through immunomodulatory actions. *Molecules.* 2023;28(3):938. doi:10.3390/molecules28030938
- 55.Siler-Marinkovic, S. Liposomes as drug delivery systems in dermal and transdermal drug delivery. In *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Nanocarriers*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2016; pp. 15–38. doi:10.1007/978-3-662-53272-9_2
- 56.Sorrenti V, Buriani A, Fortinguerra S, et al. Cell survival, death, and proliferation in senescent and cancer cells: the role of (poly)phenols. *Adv Nutr.* 2023;14(5):1111–1130. doi:10.1016/j.advnut.2023.05.014
- 57.Sun J, Tian Z, Wu J, et al. Pristimerin exerts pharmacological effects through multiple signaling pathways: a comprehensive review. *Drug Des Dev Ther.* 2024;18:1673–1694. doi:10.2147/DDDT.S460093
- 58.Tangri, P.; Khurana, S. Niosomes: Formulation and evaluation. *Int. J. Pharm.* 2011;2229:7499.
- 59.Tefas, L.R.; Muntean, D.M.; Vlase, L.; Porfire, A.S.; Achim, M.; Tomuță, I. Quercetin-loaded liposomes: Formulation optimization through a D-optimal experimental design. *Farmacia* 2015;63:126–133.
- 60.Terao, J. Potential Role of Quercetin Glycosides as Anti-Atherosclerotic Food-Derived Factors for Human Health. *Antioxidants* 2023;12:258. doi:10.3390/antiox12020258

- 61.Ulusoy, H.G.; Sanlier, N. A minireview of quercetin: From its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020;60:3290–3303. doi:10.1080/10408398.2019.1652311
- 62.Üner, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): Their benefits as colloidal drug carrier systems. *Die Pharm. Int. J. Pharm. Sci.* 2006;61:375–386.
- 63.Varshosaz, J.; Jafarian, A.; Salehi, G.; Zolfaghari, B. Comparing different sterol containing solid lipid nanoparticles for targeted delivery of quercetin in hepatocellular carcinoma. *J. Liposome Res.* 2014;24:191–203. doi:10.3109/08982104.2013.873256
- 64.Wang G, Wang Y, Yao L, et al. Pharmacological activity of quercetin: an updated review. *Evid Based Complement Altern Med.* 2022;2022:1–12. doi:10.1155/2022/3997190
- 65.Wanga, S.; Sua, R.; Niea, S.; Suna, M.; Zhanga, J.; Wub, D.; Moustaid-Moussaa, N. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of dietderived phytochemicals. *J. Nutr. Biochem.* 2014;25:363–376. doi:10.1016/j.jnutbio.2013.10.002
- 66.Wu XJ, Zhou XB, Chen C, Mao W. Systematic investigation of quercetin for treating cardiovascular disease based on network pharmacology. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2019;22(6):411–420. doi:10.2174/1386207322666190717124507
- 67.Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules.* 2019;24(6):1123. doi:10.3390/molecules24061123
- 68.Xu, D.; Hu, M.-J.; Wang, Y.-Q.; Cui, Y.-L. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules* 2019;24:1123. doi:10.3390/molecules24061123

- 69.Ye X, Wu K, Xu L, et al. Methanol extract of *Inonotus obliquus* improves type 2 diabetes mellitus through modifying intestinal flora. *Front Endocrinol.* 2023;13:1103972. doi:10.3389/fendo.2022.1103972
- 70.Zhang, X.; Pan, W.; Gan, L.; Zhu, C.; Gan, Y.; Nie, S. Preparation of a dispersible PEGylate nanostructured lipid carriers (NLC) loaded with 10-hydroxycamptothecin by spray-drying. *Chem. Pharm. Bull.* 2008;56:1645–1650. doi:10.1248/cpb.56.1645
- 71.Zhu B, Yu L, Yue Q. Co-delivery of vincristine and quercetin by nanocarriers for lymphoma combination chemotherapy. *Biomed Pharmacother.* 2017;91:287–294. doi:10.1016/j.biopha.2017.02.112
- 72.Zhu S, Yu W, Bi L, Qin F, Li J, Zeng H, Lu L. Quercetin induces apoptosis of human breast cancer cells by activating PTEN and inhibiting PI3K/AKT and JNK signaling pathways. 2022;38:714–720.
- 73.Zhu X, Ding G, Ren S, Xi J, Liu K. The bioavailability, absorption, metabolism, and regulation of glucolipid metabolism disorders by quercetin and its important glycosides: a review. *Food Chem.* 2024;458:140262. doi:10.1016/j.foodchem.2024.140262
- 74.Zou, H.; Ye, H.; Kamaraj, R.; Zhang, T.; Zhang, J.; Pavek, P. A review on pharmacological activities and synergistic effect of quercetin with small molecule agents. *Phytomedicine* 2021;92:153736. doi:10.1016/j.phymed.2021.153736.