



# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

## PHARMACEUTICAL SCIENCES

УДК 615.012

DOI 10.18413/2075-4728-2018-41-4-652-658

### РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЭКСТРАКТА КУКУРУЗЫ СТОЛБИКОВ С РЫЛЬЦАМИ СУХОГО

### DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF LIPOSOMAL FORMS OF CORN SILK DRY EXTRACT

Л.Г. Дворникова, Н.Г. Бекишева, О.Н. Мазко, Ю.В. Кореновский  
L.G. Dvornikova, N.G. Bekisheva, O.N. Mazko, Y.V. Korenovsky

Алтайский государственный медицинский университет,  
Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40

Altai State Medical University,  
40 Lenina St., Barnaul, 656038, Russia

E-mail: liubov.dv@mail.ru

#### Аннотация

Работа посвящена выбору оптимальной технологии получения липосом с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухим. Для приготовления липосом использовали фосфолипидный концентрат, содержащий спирторастворимую фракцию фосфолипидов лецитина, холестерин и  $\alpha$ -токоферол в соотношении 30:10:1. Липосомы получали методами инъекции, дегидратации/регидратации и получения пролипосом. Контроль за получением липосом осуществляли методом оптической микроскопии. Сравнительную оценку проводили по параметрам: средний размер, эффективность включения экстракта в липосомы и индекс окисленности липосомальных фосфолипидов. Наиболее эффективным способом получения липосомальной формы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого является метод получения твердой пролипосомальной субстанции с использованием лактозы при соотношении фосфолипидов и экстракта 2:1.

#### Abstract

The authors of the paper selected the optimal technology of liposomes with corn silk dry extract. Alcohol soluble phospholipids of lecithin, cholesterol and  $\alpha$ -tocopherol in a ratio of 30:10:1 was used as components of the liposomal membrane. Liposomes were prepared by injection, dehydration / rehydration and proliposomes methods. The formation of liposomes was monitored by optical microscopy. A comparative evaluation of the methods for obtaining liposomes was carried out according to parameters: mean size of liposomes, efficiency of inclusion of the extract in liposomes and oxidation index of liposomal phospholipids. The quantitative data were processed statistically using a one-way ANOVA. The optimal method for obtaining liposomes with corn silk dry extract is the proliposomal technology. The optimal ratio of "phospholipids: extract" was 2:1. Proliposomal substance is obtained by grinding the corn silk dry extract and lactose, mixing with phospholipid concentrate and drying to obtain a pulverulent mass.

**Ключевые слова:** экстракт сухой, кукурузы столбики с рыльцами, флавоноиды, липосомы, пролипосомы.

**Keywords:** dry extract, corn silk, flavonoids, liposomes, proliposomes.

## Введение

Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой предложен сотрудниками АГМУ в качестве перспективного гепатопротекторного средства [Дворникова и др., 2012]. Особенностями технологии данного экстракта являются многоступенчатое противоточное экстрагирование, использование в качестве экстрагента спирта этилового 60 % [Турецкова и др., 2014], а в качестве сырья – столбиков с рыльцами, заготовленных в период молочно-восковой спелости початков кукурузы [Дворникова, Турецкова В.Ф., 2010]. Данные факторы обусловили получение экстракта с высоким содержанием флавоноидов и фенолокислот.

Основными недостатками растительных гепатопротекторов являются низкая биологическая доступность действующих веществ (20–50 %) [El-Gazayerly et al., 2014] и недостаточная их тропность к органу-мишени [Матвеев, 2013].

Для улучшения биологической доступности флавоноидов, и, как следствие, их гепатопротекторной активности, предлагается технология комбинированных лекарственных препаратов, содержащих фитоконпонент и фосфолипиды [Angelico et al., 2014; El-Gazayerly et al., 2014; Khan et al., 2016].

Фосфолипиды, входящие в состав комбинированных гепатопротекторов, обладают способностью образовывать бислои [Новикова и др., 2017], что обуславливает возможность создания липосомальных форм препаратов. Следует отметить, что 90 % липосом в организме человека поглощаются печенью («пассивное нацеливание») [Storm, Crommelin, 1998]. Следовательно, создание липосомальных форм растительных гепатопротекторов обеспечит их направленную доставку в орган-мишень. Так, гепатотропность и высокая степень абсорбции липосомальной лекарственной формы подтверждена рядом экспериментов для флавоноида силибинина [Elmowafy et al., 2013; Kumar et al., 2014; Wang et al., 2015], а также для других фенольных соединений, в частности, феруловой кислоты, кверцетина, кемпферола, лютеолина и апигенина [Feng et al., 2016; Karthivashan et al., 2016; Huang et al., 2017].

**Целью исследования** является выбор оптимальной технологии получения липосом с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухим.

## Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой, полученный на кафедре фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (1.09±0.01 % флавоноидов и 4.18±0.19 % фенолокислот), лецитин соевый гранулированный (ООО «Плеза», Россия), холестерин (Panreac, кат. № 371274.1211, Испания), α-токоферол в виде масляного раствора 10 % (ОАО «Самарамедпром», Россия).

В качестве растворителя был выбран спирт этиловый 95 %, поскольку по сравнению с другими органическими растворителями он обладает наименьшей токсичностью для организма, тем самым упрощая процесс приготовления липосом, т. к. нет необходимости удалять остатки растворителя из липосомальной лекарственной формы.

Для удобства приготовления липосом был получен фосфолипидный концентрат, содержащий спирторастворимую фракцию фосфолипидов (ФЛ) лецитина, холестерин для повышения стабильности липидной мембраны [Kumar et al., 2014] и α-токоферол для предотвращения перекисного окисления компонентов липосом [Shulga, 2016]. Соотношение ФЛ, холестерина и α-токоферола составляло 30:10:1. Соотношение ФЛ и экстракта – 1:1.7.

Липосомы получали тремя методами: инъекции [Магдеева, 2015], дегидратации/регидратации [Новикова и др., 2017] и получения пролипосом [Khan et al., 2018].

Получение липосом инъекционным методом заключалось в следующем: экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой растворяли в воде очищенной и в полученный раствор вспыскивали фосфолипидный концентрат тонкой иглой при ручном встряхивании.



В методе дегидратации/регидратации фосфолипидный концентрат разводили в спирте этиловом 95 %, помещали в круглодонную колбу и выпаривали на испарителе ротационном ИР-1-ЛТ при температуре 37 °С, давлении 0.9...–1.0 атм и вращении ротора 50 об/мин до образования тонкой пленки. Экстракт растворяли в воде очищенной и полученным раствором смывали липидную пленку со стенок колбы.

Для получения пролипосом экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой измельчали с лактозой, добавляли фосфолипидный концентрат и перемешивали. Полученную смесь высушивали в шкафу сушильном вакуумном ШСВ-45 при давлении 0.9...–1.0 атм в течение 15 мин до получения порошкообразной массы.

Липосомальные формы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого изучались по следующим параметрам:

1. Морфология липосом (метод оптической микроскопии на микроскопе Микромед-2 при увеличении в 1000 раз без окрашивания) [Bibi et al., 2011].

2. Средний размер липосом определяли методом спектротурбидиметрии / «спектра мутности» [Бабаев и др., 2011; Кленин и др., 1977]. Предпочтительными считались липосомы размером более 150 нм, так как частицы этого размера задерживаются при печеночной фильтрации [Барышников, 2012].

3. Эффективность включения экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в липосомы оценивали по содержанию флавоноидов, определяемому методом дифференциальной спектрофотометрии [Забоева и др., 2015].

4. Степень окисленности липосомальных фосфолипидов оценивали по индексу окисленности ( $I_o$ ), устанавливаемому спектрофотометрически как отношение оптической плотности растворов при длинах волн 233 и 215 нм. При этом учитывали, что оптимальное значение  $I_o$  должно составлять 0.4, а окисление фосфолипидов выше значений 0.6 приводит к рискам нестабильности продукта во время хранения [Стадниченко и др., 2017].

Выбор оптимального соотношения фосфолипидов и экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого осуществляли по проценту включения экстракта в липосомы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистического пакета программы SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., США). Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного квадратического отклонения. Количественные показатели липосом, полученных разными методами, оценивали с помощью однофакторного параметрического дисперсионного анализа (ANOVA). Различия в показателях оценивались по критерию Холма-Сидака и считались статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

### Результаты и их обсуждение

Согласно данным микроскопического анализа, образование липосом произошло при использовании всех методов приготовления. В микропрепарате липосом, приготовленных методом инъекции (рис. 1а), наблюдается большое количество липосом, размеры гетерогенны, преобладают более мелкие липосомы. В микропрепарате липосом, приготовленных методом дегидратации/регидратации (рис. 1б), наблюдается некоторое количество липосом, размеры гетерогенны, преобладают крупные и средние липосомы. При получении препарата по пролипосомальной технологии (рис. 1с) наблюдается большое количество липосом, размеры гетерогенны, преобладают средние липосомы.

Результаты экспериментов по установлению среднего размера липосом, эффективности включения действующих веществ и индексу окисленности липосомальных фосфолипидов обобщены в таблице.

Окисление липосомальных фосфолипидов при получении липосом с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухим всеми методами характеризуется значениями  $I_o$ , приближающимися к предельно допустимому значению 0.6 [Стадниченко и др., 2017]. Для снижения рисков нестабильности липосом при хранении следует увеличить количество  $\alpha$ -токоферола в рецептуре фосфолипидного концентрата.

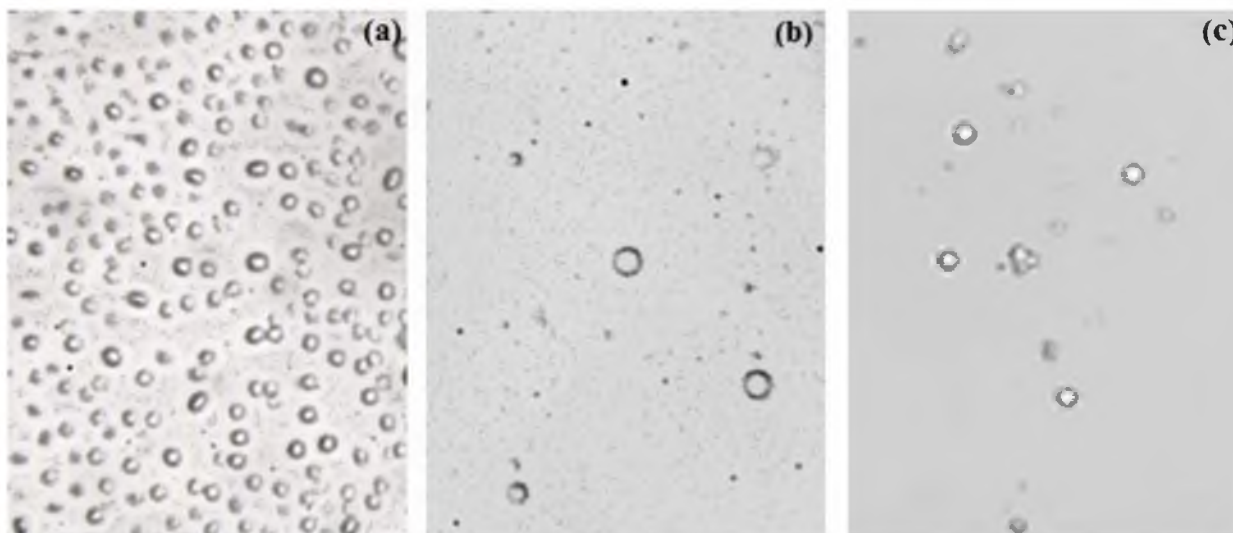


Рис. 1. Микропрепараты липосом с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухим, приготовленных методами инъекции (а), дегидратации/регидратации (b) и получения пролипосом (с)  
 Fig. 1. Optical microscope images of liposomes with corn silk dry extract, prepared by the injection (a), dehydration/rehydration (b) and proliposomes (c) methods

Характеристика методов получения липосом с экстрактом кукурузы столбиков с рыльцами сухим  
 Characteristics of methods for obtaining liposomes with corn silk dry extract

Показатели	Методы получения липосом			достоверность различий, p
	инъекция	дегидратация/регидратация	пролипосомы	
Средний размер липосом, нм	129±3	268±7	266±5	p<0.001
				p <sub>1</sub> =0.017
				p <sub>2</sub> =0.025
				p <sub>3</sub> =0.050
Эффективность включения экстракта в липосомы, %	22.9±0.6	25.0±0.9	44.6±1.5	p<0.001
				p <sub>1</sub> =0.022
				p <sub>2</sub> <0.001
				p <sub>3</sub> <0.001
Индекс окисленности (Io)	0.573±0.009	0.593±0.013	0.580±0.013	p=0.055

Примечание: данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n=5). Достоверность количественных различий оценивали с использованием критерия Холма – Сидака (p). p<sub>1</sub> – достоверность различий в характеристиках липосом, полученных методами инъекции и дегидратации/регидратации; p<sub>2</sub> – достоверность различий в показателях липосом, полученных методом инъекции и пролипосомальной технологией; p<sub>3</sub> – достоверность различий в показателях липосом, полученных методом дегидратации/регидратации и пролипосомальной технологией.

Липосомы, имеющие предпочтительный размер (более 150 нм) и, следовательно, способные задержаться в печени [Барышников, 2012], получают методами дегидратации / регидратации и пролипосомальной технологией. Наиболее эффективным способом получения липосомальной формы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого является метод получения пролипосом, т.к. при данном методе достигается наиболее высокий процент включения экстракта в липосомы.

Эффективность включения флавоноидов экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в липосомы (при получении по пролипосомальной технологии) составила 56.9±0.6,



85.1±0.6 и 100±0.0 при соотношении ФЛ и экстракта 2:3; 2:2 и 2:1 соответственно (n=5, p<0.001). При конструировании липосомальной формы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого по технологии получения пролипосом наиболее целесообразно использовать соотношение ФЛ и экстракта 2:1.

### Заключение

Оптимальным способом получения липосомальной лекарственной формы экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого является метод получения пролипосом как обеспечивающий наибольший процент инкапсулирования флавоноидов экстракта внутрь образующихся липосом. Пролипосомальную субстанцию получают путем измельчения экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого с лактозой, смешивания с фосфолипидным концентратом и высушивания до получения порошкообразной массы. При добавлении фосфолипидного концентрата необходимо придерживаться соотношения фосфолипидов и экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого 2:1, поскольку при данном соотношении включение флавоноидов экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в липосомы равно 100 %.

Пролипосомальная субстанция экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого, представляющая собой твердую порошкообразную массу, имеет технологические преимущества перед липосомальными суспензиями изучаемого экстракта, полученными методами инъекции и дегидратации/регидратации. При получении пролипосом требуется наиболее простое технологическое оборудование, а также отсутствует необходимость введения в технологическую схему производства стадии обезвоживания липосомальной формы для получения твердых лекарственных форм на ее основе. Пролипосомальную субстанцию экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого можно использовать для получения пероральных и суббукальных лекарственных форм (таблетки, капсулы) после предварительной оценки фармакологической активности.

### Список литературы References

1. Бабаев М.С., Каримова Г.Р., Галимова С.Р. 2011. Измерение размеров полимерных наночастиц в водных растворах полиэлектролитных комплексов. В кн.: Материалы XIV молодежной конференции по органической химии (Екатеринбург, 10-14 мая 2011 г.). Екатеринбург, Уральский центр академического обслуживания: 300-302.

Babaev M.S., Karimova G.R., Galimova S.R. 2011. Izmerenie razmerov polimernyh nanochastic v vodnyh rastvorah polielektrolitnyh kompleksov [Measurement of the size of polymer nanoparticles in aqueous solutions of polyelectrolyte complexes]. V kn.: Materialy XIV molodezhnoj konferencii po organicheskoj himii (Ekaterinburg, 10-14 maja 2011 g.). Ekaterinburg, Ural'skij centr akademicheskogo obsluzhivaniya: 300-302. (in Russian)

2. Барышников А.Ю. 2012. Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. Вестник РАМН. 3: 23-31.

Baryshnikov A.Ju. 2012. Nanostrukturirovannye liposomal'nye sistemy kak sredstvo dostavki protivopuholevyh preparatov [Nanostructured liposomal systems as a means of delivering anticancer drugs]. Vestnik RAMN. 3: 23-31. (in Russian)

3. Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф., Замятина С.В., Мазко О.Н., Золовкина А.Г., Смирнов И.В., Щербakov Ю.Н., Волобой Н.Л. 2012. Экстракт кукурузы столбиков с рыльцами сухой как потенциальное средство терапии токсических гепатитов. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 5 (3): 711-714.

Dvornikova L.G., Tureckova V.F., Zamjatina S.V., Mazko O.N., Zolovkina A.G., Smirnov I.V., Shherbakov Ju.N., Voloboj N.L. 2012. Jekstrakt kukuruzy stolbikov s ryl'cami suhoj kak potencial'noe sredstvo terapii toksicheskikh gepatitov [Corn columns silk dry extract as potential means of toxic hepatitis therapy]. Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. 5 (3): 711-714. (in Russian)



4. Дворникова Л.Г., Турецкова В.Ф. 2010. Сравнительная оценка состава биологически активных веществ кукурузы столбиков с рыльцами, заготовленных на Алтае в различные фазы спелости початков кукурузы. Вестник ПГФА. 7: 55-58.

Dvornikova L.G., Tureckova V.F. 2010. Sravnitel'naja ocenka sostava biologicheski aktivnyh veshhestv kukuruzy stolbikov s ryl'cami, zagotovlennyh na Altae v razlichnye fazy spelosti pochatkov kukuruzy [Comparative assessment of the composition of the biologically active substances of corn silk gathered in Altai in different phases of corn cob maturity]. Vestnik PGFA. 7: 55-58. (in Russian)

5. Забоева Н.Г., Дворникова Л.Г., Кудинов А.В. 2015. Определение процента включения экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого в липосомы. Актуальные проблемы фармакологии и фармации: ежегодный сборник научных и методических работ преподавателей, молодых ученых и студентов фармацевтического факультета. 12: 51-57.

Zaboeva N.G., Dvornikova L.G., Kudinov A.V. 2015. Opredelenie procenta vkljuchenija jekstrakta kukuruzy stolbikov s ryl'cami suhogo v liposomy [Determination of the percentage of inclusion of corn silk dry extract in liposomes]. Aktual'nye problemy farmakologii i farmacii: ezhegodnyj sbornik nauchnyh i metodicheskikh rabot prepodavatelej, molodyh uchenyh i studentov farmacevticheskogo fakul'teta. 12: 51-57. (in Russian)

6. Кленин В.И., Щеголев С.Ю., Лаврушкин В.И. 1977. Характеристические функции светорассеяния дисперсных систем. Саратов, Изд. СГУ, 177.

Klenin V.I., Shhegolev S.Ju., Lavrushkin V.I. 1977. Harakteristicheskie funkicii svetorasseyaniija dispersnyh system [Characteristic functions of dispersion of light scattering systems]. Saratov, Izd. SGU, 177. (in Russian)

7. Магдеева Э.А. 2015. Выделение липосом из яичного лецитина. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 221(1): 135-137.

Magdeeva Je.A. 2015. Vydelenie liposom iz jaichnogo lecitina [Isolation of egg lecithin liposomes]. Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N.Je. Baumana. 221(1): 135-137. (in Russian)

8. Матвеев А.В. 2013. Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени. Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 384.

Matveev A.V. 2013. Gepatoprotektory. Analiz mezhdunarodnyh issledovanij po preparatam grupy lekarstv dlja pecheni [Hepatoprotectors. Analysis of international research on drugs of treatment of liver diseases]. Simferopol', IT «ARIAL», 384. (in Russian)

9. Новикова А.А., Кезимана П., Станишевский Я.М. 2017. Методы получения липосом, используемых в качестве носителей лекарственных средств (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2(19): 134-138.

Novikova A.A., Kezimana P., Stanishevskij Ja.M. 2017. Metody poluchenija liposom, ispol'zue-myh v kachestve nositelej lekarstvennyh sredstv (obzor) [Methods of obtaining liposomes, used as drug delivery systems (review)]. Razrabotka i registracija lekarstvennyh sredstv. 2(19): 134-138. (in Russian)

10. Стадниченко А.В., Краснополяский Ю.М., Ярных Т.Г. 2017. Исследование окисленности фосфолипидов при получении липосом с цитостатиками. Вестник фармации. 3 (77): 29-33.

Stadnichenko A.V., Krasnopol'skij Ju.M., Jarnyh T.G. 2017. Issledovanie okislennosti fosfolipidov pri poluchenii liposom s citostatikami [Research of phospholipids oxidation during production of liposomes with cytostatics]. Vestnik farmacii. 3 (77): 29-33. (in Russian)

11. Турецкова В.Ф., Дворникова Л.Г., Мазко О.Н., Смирнов И.В., Золовкина А.Г. 2014. Способ получения средства, обладающего гепатопротекторным действием. Патент РФ №2522281.

Tureckova V.F., Dvornikova L.G., Mazko O.N., Smirnov I.V., Zolovkina A.G. 2014. Sposob poluchenija sredstva, obladajushhego gepatoprotektornym dejstviem [The method of obtaining hepatoprotective drug]. Patent RF №2522281. (in Russian)

12. Angelico R., Ceglie A., Sacco P., Colafemmina G., Ripoli M., Mangia A. 2014. Phyto-liposomes as nanoshuttles for water-insoluble silybin-phospholipid complex. Int J Pharm. 471 (1-2):173-81. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.05.026.

13. Bibi S., Kaur R., Henriksen-Lacey M., McNeil S.E., Wilkhu J., Lattmann E., Christensen D., Mohammed A.R., Perrie Y. 2011. Microscopy imaging of liposomes: from coverslips to environmental SEM. Int J Pharm. 417 (1-2): 138-50. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.12.021.

14. El-Gazayerly O.N., Makhlof A.I., Soelm A.M., Mohmoud M.A. 2014. Antioxidant and hepatoprotective effects of silymarin phytosomes compared to milk thistle extract in CCl4 induced hepatotoxicity in rats. J Microencapsul. 31 (1): 23-30. doi: 10.3109/02652048.2013.805836.



15. Elmowafy M., Viitala T., Ibrahim H.M., Abu-Elyazid S.K., Samy A., Kassem A., Yliperttula M. 2013. Silymarin loaded liposomes for hepatic targeting: in vitro evaluation and HepG2 drug uptake. *Eur J Pharm Sci.* 50 (2):161-71. doi: 10.1016/j.ejps.2013.06.012.
16. Feng Y., Sun C., Yuan Y., Zhu Y., Wan J., Firempong C.K., Omari-Siaw E., Xu Y., Pu Z., Yu J., Xu X. 2016. Enhanced oral bioavailability and in vivo antioxidant activity of chlorogenic acid via liposomal formulation. *Int J Pharm.* 501(1-2): 342-349. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.01.081.
17. Karthivashan G., Masarudin M.J., Kura A.U., Abas F., Fakurazi S. 2016. Optimization, formulation, and characterization of multiflavonoids-loaded flavanosome by bulk or sequential technique. *Int J Nanomedicine:* 11:3417-3434. doi: 10.2147/IJN.S112045.
18. Khan I., Yousaf S., Subramanian S., Alhnan M.A., Ahmed W., Elhissi A. 2018. Proliposome Powders for the Generation of Liposomes: the Influence of Carbohydrate Carrier and Separation Conditions on Crystallinity and Entrapment of a Model Antiasthma Steroid. *AAPS PharmSciTech.* 19 (1): 262-274. doi: 10.1208/s12249-017-0793-2.
19. Khan J., Saraf S., Saraf S. 2016. Preparation and evaluation of luteolin-phospholipid complex as an effective drug delivery tool against GalN/LPS induced liver damage. *Pharm Dev Technol;* 21 (4): 475-486. doi: 10.3109/10837450.2015.1022786.
20. Kumar N., Rai A., Reddy N.D., Raj P.V., Jain P., Deshpande P., Mathew G., Kutty N.G., Udupa N., Rao C.M. 2014. Silymarin liposomes improves oral bioavailability of silybin besides targeting hepatocytes, and immune cells. *Pharmacol Rep.* 66(5):788-798. doi: 10.1016/j.pharep.2014.04.007.
21. Shulga S.M. 2016. Liposome stability dependence on fatty acid lecithin composition and sunflower phospholipids. *Biotechnologia Acta.* 9 (1): 87-96.
22. Storm G., Crommelin D.J.A. 1998. Liposomes: quo vadis. *RSTT.* 1 (1): 19-31.
23. Wang M., Xie T., Chang Z., Wang L., Xie X., Kou Y., Xu H., Gao X. 2015. A new type of liquid silymarin proliposome containing bile salts: its preparation and improved hepatoprotective effects. *PLoS One,* 10(12): e0143625. doi: 10.1371/journal.pone.0143625.
24. Huang M., Su E., Zheng F., Tan C. 2017. Encapsulation of flavonoids in liposomal delivery systems: the case of quercetin, kaempferol and luteolin. *Food Funct.* 8 (9): 3198-3208. doi: 10.1039/c7fo00508c.