

УДК 615.454.014.22+544.77.051.7

## ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА МЕДИКО-БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ НАНОКРЕМНЕЗЕМ – РУТИН – КАТІОННА ПАР

Т.В. Федяніна<sup>1\*</sup>, В.М. Барвінченко<sup>1</sup>, Н.О. Ліпковська<sup>1</sup>,  
А.О. Ругаль<sup>1</sup>, Л.І. Чепель<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України  
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, tfedyanina@gmail.com

<sup>2</sup>Хмельницький факультет післядипломної освіти Вінницького національного  
медичного університету ім. М.І.Пирогова  
вул.Водопровідна, 8, Хмельницький, 28019, Україна

Проведені фізико-хімічні дослідження системи нанокремнезем–рутин–катіонна ПАР бензилдиметил[3–(мірістоїламіно)пропіл]амонію хлорид показали, що спектральні і протолітичні властивості, розчинність і адсорбція рутину залежать від концентрації ПАР в розчині і принципово змінюються при перевищенні критичної концентрації міцелоутворення. За результатами фізико-хімічних досліджень наносистеми розроблена рецептура трьохкомпонентного стоматологічного препарату на основі нанокремнезема та рутину у формі супрамолекулярного комплексу з бензилдиметил[3–(мірістоїламіно)пропіл]амонію хлоридом, який має антисептичні властивості широкого спектру дії, для лікування хвороб пародонта. Висока лікувальна ефективність препарату була доведена медико-біологічними випробуваннями.

### ВСТУП

Біоактивний флавоноїд рутин – представник підкласу флавонолів з численого класу низькомолекулярних багатоатомних фенолів рослинного походження [1, 2]. Ця природна сполука групи вітамінів Р широко застосовується у медицині [1, 3], оскільки має антиоксидантні та хелатоутворюючі властивості, проявляє високу протизапальну, противірусну активність, здатність зменшувати проникність і ламкість капілярів, підвищувати їх резистентність [4–6]. Недоліком всіх флавоноїдів є низька розчинність у водних середовищах і рідинах організму, яка є однією з основних біофармацевтичних характеристик [7].

Для підвищення розчинності лікарських речовин розроблені і використовуються різні методи: солубілізація, одержання твердих дисперсних систем з розчинними і нерозчинними матрицями, включення до ліпосом, нанокапсулювання та інші [7]. Згідно сучасних уявлень, збільшення розчинності лікарських препаратів відбувається, зокрема, за рахунок утворення супрамолекулярних комплексів, які можна віднести до наносистем. Наносистеми існують у розчині, утворюючи разом з розчинником так звані організовані середовища, в яких відбувається солубілізація (колоїдне розчинення)

практично нерозчинних у воді речовин, змінюються їхні властивості і протікання хімічних процесів за рахунок специфічних локальних ефектів в мікрооточенні [8].

Організовані середовища (ОС) поділяють на ліофільні (міцелярні розчини колоїдних ПАР, мікроемульсії, розчини циклодекстринів, краун-ефірів, каліксаренів, дендримерів, полімерів та ін.) та ліофобні (суспензії різноманітних наночастинок) [8, 9]. Перспективними для використання в медичній практиці є біосумісні ОС, зокрема, утворені представником катіонних ПАР бензилдиметил [3–(мірістоїламіно)пропіл] амонію хлоридом (БПМА), який є однією з найбільш ефективних ПАР з терапевтичної точки зору. Міцелярні розчини ПАР мають специфічні властивості організованих реакційних середовищ, в яких істотно змінюються властивості речовин, їх розчинність, протікання хімічних процесів, завдяки чому вони широко застосовуються в різних галузях промисловості, зокрема, в фармакології [7].

Метою даної роботи було фізико-хімічне дослідження впливу БПМА у великому інтервалі концентрацій на розчинність, спектральні, протолітичні властивості флавоноїду рутину (Rt), а також його адсорбцію на пове-

\* контактний автор tfedyanina@gmail.com

рхні нанокремнезему для створення ефективних комплексних лікарських препаратів.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Використовували пірогенний нанодисперсний аморфний діоксид кремнію (НК) виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу, рутин (Рт) виробництва «Sichuan Xieli Pharmaceutical Co. Ltd.» (Корея), бензилдіметил [3-(мірістоїламіно)пропіл] амонію хлорид моногідрат (БМПА), дозволений для застосування Фармкомітетом МОЗ України. Кислотність розчинів контролювали за допомогою скляного електрода іонміра універсального ЕВ-7. Для вимірювання електронних спектрів Рт та БМПА використовували спектрофотометр Specord M-40 (Carl Zeiss Jena, Germany). Дослідження розчинності Рт у присутності БМПА проводили методом розчинності, як описано в роботі [10].

В якості сорбента використовували НК А-300 (питома поверхня 300 м<sup>2</sup>/г). Адсорбцію Рт з водних розчинів на поверхні НК вивчали в статичних умовах шляхом перемішування їх розчинів при відповідному значенні рН з сорбентом до встановлення рівноваги (2 год) при 25 °С. В усіх експериментах загальний об'єм розчину був V=20 мл, маса сорбента m=0,1г. Після адсорбції суспензію центрифугували (8000 об/хв, 15 хв) і визначали в розчині рівноважну концентрацію Рт спектрофотометричним методом, виходячи з відповідних значень молярних коефіцієнтів поглинання з урахуванням їх змін в залежності від рН розчину.

Величину адсорбції (а, моль/г) розраховували по формулі:

$$a=(C_0-[C])*V*1000/m, \quad (1)$$

де C<sub>0</sub> – початкова концентрація; [C] – рівноважна концентрація; V – об'єм розчину (мл); m – маса сорбенту (г).

При визначенні рівноважної концентрації комплексу Рт – БМПА використовували умовний молярний коефіцієнт поглинання  $\epsilon^R$ , для розрахунку якого відповідну величину оптичної густини R визначали за методом базисної лінії:

$$R= A_{\lambda_{\max}} - (A_{\lambda_1} + A_{\lambda_2})/2 \quad (2)$$

$$\text{при умові } \lambda_{\max} - \lambda_1 = \lambda_2 - \lambda_{\max}, \lambda_{\max} - \lambda_1 = \lambda_2 - \lambda_{\max}, \epsilon^R = R/C \cdot l, \quad (3)$$

де A<sub>λ<sub>max</sub></sub>, A<sub>λ<sub>1</sub></sub>, A<sub>λ<sub>2</sub></sub> – світлопоглинання розчину при λ<sub>1</sub> та λ<sub>2</sub> нм відповідно; С – концентрація рутину; l – товщина шару кювети.

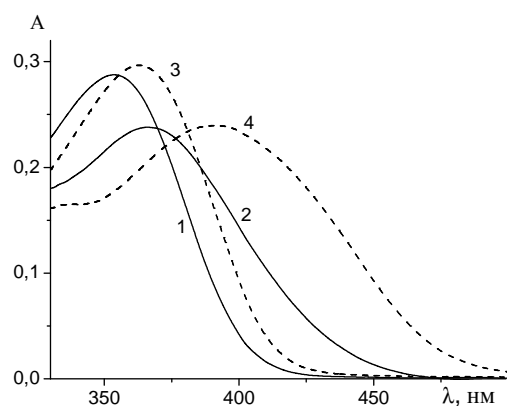
При клінічних випробуваннях місцеве застосування лікувальних паст полягало у введенні їх у пародонтальні кишені та в аплікаційному нанесенні на ясна. При обстеженні пацієнтів із запальними захворюваннями пародонту використовували загальноприйняті методи клінічного дослідження [11–12]. Контрольний огляд пацієнтів після проведення курсу лікування здійснювали через 10–15 днів, стан пародонту оцінювали за допомогою критеріїв “без змін”, “погіршення”, “клінічне благополуччя”. Для оцінки віддалених результатів контрольний огляд здійснювали через 6 місяців після курсу лікування, використовували критерії оцінки клінічного стану пародонту “ремісія”, “без змін”.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні взаємодії флавоноїдів кверцетину і моріну [13–15] з аніонним (додецилсульфат натрію), катіонним (цетілтриметиламонію бромід) та неіонним (тритоном X-100) поверхнево-активними речовинами було знайдено, що ПАР різної природи істотно впливають на спектральні властивості (електронні спектри поглинання, флуоресцентні емісійні спектри) флавоноїдів. Нами встановлено [16–19], що супрамолекулярні взаємодії рутину та кверцетину з сироватковим альбуміном людини (САЛ) та полівініл-пірролідон (ПВП) також проявляються у зміні їх спектральних характеристик, зокрема, супроводжуються батохромним зсувом спектрів поглинання, який викликаний збільшенням поляризації молекул флавоноїдів в супрамолекулярних комплексах з біополімерами. З рис. 1 видно, що в спектрах флавоноїду спостерігаються батохромні зсуви як при збільшенні рН розчину, так і при введенні КПАР.

Збільшення рН розчину призводить до батохромного зсуву спектрів рутину в області рН > 5 (Рис. 1, крива 1), корелюючи з утворенням його моноаніону: pK<sub>a1(Рт)</sub> = 7,21 (таблиця). У присутності БМПА в усьому вивченому інтервалі рН спостерігається зсув λ<sub>max</sub> у спектрах флавоноїду в область більших довжин хвиль як при малих концентраціях КПАР (С<sub>БМПА</sub> = 6,7·10<sup>-5</sup> М – рис.2, крива 2), так і високих (2,0·10<sup>-3</sup> М – рис.2, крива 3). Проте в обох випадках вигляд знайдених

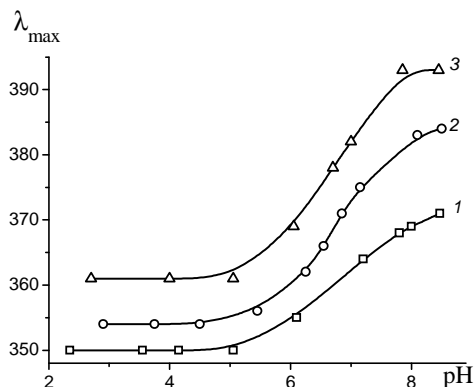
залежностей  $\lambda_{\max}$  від рН подібний до кривих, отриманих при вивченні індивідуального флавоноїду (крива 1).



**Рис. 1.** Спектри поглинання розчинів рутину при рН 3,0 (1, 3) та 7,4 (2, 4) у відсутності (1, 2) та в присутності БМПА (3, 4)  $C_{P_T}=2,0 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{BMBP}=2,0 \cdot 10^{-3}$  М,  $l = 1$  см

**Таблиця.** Протолітичні властивості рутину

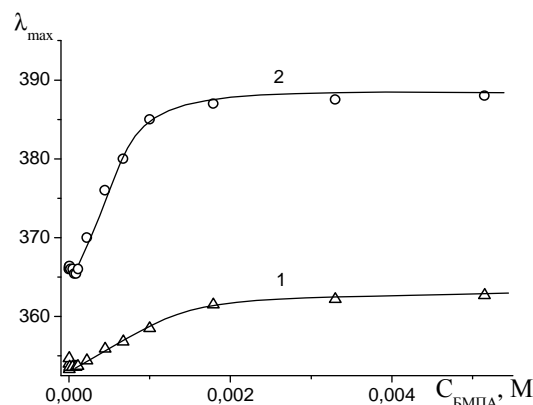
$pK_{a1}$	$pK_{a2}$	$pK_{a3}$	$pK_{a4}$	Література
7,40,	8,70	12,6	14,2	[22]
8,96	-	-	-	[23]
7,21	-	-	-	дана робота



**Рис. 2.** Залежність  $\lambda_{\max}$  розчинів рутину у водних (1), передміцелярних (2) та міцелярних (3) розчинах БМПА від рН розчину.  $C_{BMBP}=6,7 \cdot 10^{-5}$  М (2),  $2,0 \cdot 10^{-3}$  М (3),  $C_{P_T}=2,0 \cdot 10^{-5}$  М

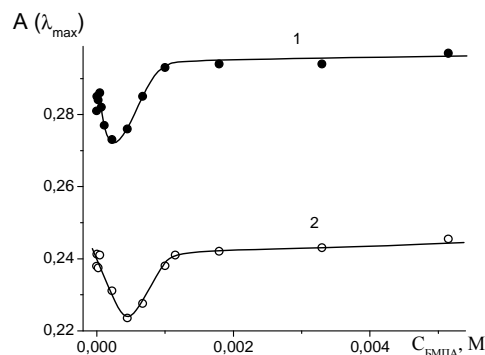
Як видно з рис. 3 в області вибраних значень рН рутин ( $pK = 7,21$ ) існує в молекулярній формі (рН = 3,0) або у вигляді суміші молекулярної і депротонованої форм (рН = 7,4). Введення БМПА у розчини флавоноїду призводить до збільшення величини  $\lambda_{\max}$  спектрів поглинання, яка досягає граничного значення при концентрації

ПАР  $\sim 1 \cdot 10^{-3}$  М, причому ступінь зростання величини  $\lambda_{\max}$  більша при рН=7,4. Різкий перегиб наведених кривих при збільшенні концентрації ПАР відповідає критичній концентрації міцелотворення БМПА. При більших концентраціях БМПА спектральні характеристики рутину вже не змінюються, що свідчить про його повне зв'язування міцелами.



**Рис. 3.** Залежність  $\lambda_{\max}$  рутину від концентрації БМПА при рН=3,0 (1) та 7,4 (2)

Іншою важливою спектральною характеристикою є зміна інтенсивності смуги поглинання при  $\lambda_{\max}$  від концентрації БМПА (рис. 4). Залежності інтенсивності смуг рутину в кислому та нейтральному середовищі від концентрації БМПА мають мінімуми при  $C_{BMBP} = 3 \cdot 10^{-4}$  М. Такі зміни світлопоглинання в розчинах при  $C_{BMBP} < KKM$  свідчать про ступінчасту взаємодію в доміцелярних розчинах КПАР. Перегиб залежності оптична густина –  $C_{BMBP}$  спостерігається при  $C_{BMBP} \sim 1 \cdot 10^{-3}$  М, підтверджуючи, що ця концентрація ПАР відповідає величині КKM.



**Рис. 4.** Залежність оптичної густини розчинів рутину при  $\lambda_{\max}$  від концентрації БМПА при рН=3,0 (1) та 7,4 (2)

Аналогічне зниження абсорбції спостерігалося для розчинів хромофорних органічних реагентів (ОР) у розчинах КПАР при концентраціях менше ККМ. Це автори [20, 21] пояснювали тим, що спершу утворюються слабодисоційовані електронейтральні іонні асоціати, як правило, стехіометричного складу. Утворення таких асоціатів у водних розчинах має бути обумовлено наявністю хоча б однієї дисоційованої групи в молекулі ОР та іонів ПАР протилежного заряду. Властивості таких іонних асоціатів ОР–ПАР повинні відрізнятися від властивостей вихідних ОР, а саме може зменшуватися розчинність у воді і, відповідно, падати інтенсивність спектрів поглинання. Далі при збільшенні концентрації ПАР утворюються заряджені змішані міцели  $OP(PAR)_x$ , стабілізація яких у водних середовищах обумовлена гідрофобними взаємодіями. У випадку з рутином зміна його спектральних властивостей, що свідчить про взаємодію з БМПА, спостерігається не тільки в області існування депротонованої форми флавоноїда ( $pH > pK_{al} - 2$ ), а й в області існування його молекулярної форми ( $pH < pK_{al} - 2$ ) – рис. 1–4, коли утворення нейтрального іонного асоціату неможливе. У цьому випадку основну роль в утворенні асоціатів рутин–БМПА відіграють гідрофобні взаємодії та утворення водневого зв'язку

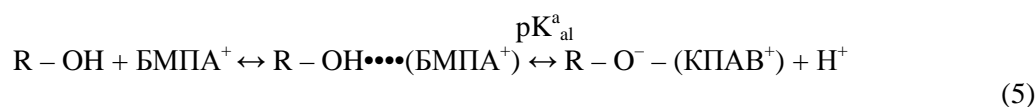
між ОН-групами флавоноїду та амідною групою БМПА, в результаті яких утворюються гідрофобно-гідратовані асоціати високої міцності, а зміна їх спектрів поглинання обумовлена сольватохромними ефектами.

Рутин у водних розчинах можна розглядати як багатоосновну кислоту –  $H_4R$ . Виходячи з даних, що наведені у літературі (табл. 1), в досліджуваному інтервалі pH 3–8,5 спостерігається протолітична рівновага:

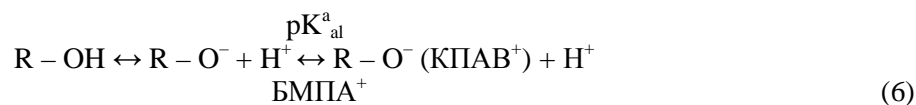


Введення КПАР у розчини хромофорних органічних реагентів приводить до зміни їх кислотно-основних властивостей [24–27]. Кількісний опис впливу ПАР на кислотно-основні властивості флавоноїдів в літературі відсутній, хоча врахування протолітичних взаємодій як найбільш універсальних, має велике практичне значення при розробці і використанні лікарських препаратів на основі таких систем [26].

Особливості протікання протолітичних реакцій рутину в розчинах БМПА були досліджені в широкому інтервалі концентрацій цієї КПАР. Рівновагу в кислих розчинах ( $pH < pK_{al} - 2$ ), що містять флавоноїд в молекулярній формі (R-OH) і БМПА, можливо представити таким чином:



У розчинах з  $pH = pK_{al} \pm (0 \div 2)$ , де співіснують молекулярна та депротонована форми рутину, існує й друга рівновага:



Як можна бачити зі схем 5 та 6, відбувається зсув рівноваги дисоціації рутину внаслідок утворення асоціатів з БМПА.

Для визначення величини константи дисоціації рутину у розчинах БМПА ( $pK_{al}^a$ ) використовували рівняння [24, 25]:

$$pK_{al}^a = pH_{H_2O} + \lg ([ROH]/[RO^-]) \quad (7)$$

Значення  $pH_{H_2O}$  характеризують водну (об'ємну) фазу і визначаються, як правило, потенціометрично зі скляним електродом в ланцюзі з переносом. У нашому випадку для встановлення різ-

них значень pH були використані фосфатні буферні розчини. Співвідношення рівноважних концентрацій молекулярної і депротонованої форм рутину, виражених в молях на літр всього розчину ( $[ROH]/[RO^-]$ ), визначали за стандартною спектрофотометричною методикою [28]. Для розрахунку  $pK_{al}^a$  немає необхідності точно знати ступінь зв'язування реагенту з ПАР. У граничному випадку, якщо обидві спряжені форми взагалі не пов'язані з ПАР, знайдене значення  $pK_{al}^a$  буде збігатися зі значенням  $pK_a$ , знайденим в тій же буферній системі у відсут-

ності ПАР. У загальному випадку величина  $pK_{a1}^a$  характеризує, двохфазну рівновагу, оскільки значення  $pH_{H_2O}$  відноситься до безперервної водної фази, а відношення  $[ROH]/[RO^-]$  – до міцелярної, тому для величини  $pK_{a1}^a$  в літературі прийнята назва «уявна» константа іонізації реагенту.

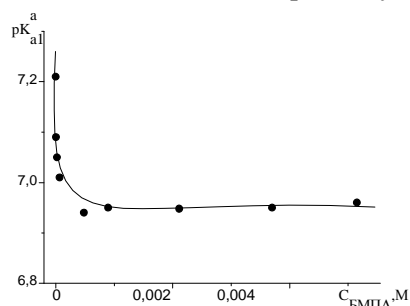


Рис. 5. Залежність  $pK_{a1}^a$  рутину від концентрації БМПА

Як видно з рис. 5, величина першої константи дисоціації рутину зменшується при збільшенні концентрації БМПА до  $1 \cdot 10^{-3} M$ , тобто відбувається посилення кислотних властивостей рутину. При подальшому рості  $C_{БМПА} > 1 \cdot 10^{-3} M$  величина  $pK_{a1}^a$  рутину виходить на постійне значення 7,0. Перегин залежності спостерігається при  $C_{БМПА} \sim 1 \cdot 10^{-3} M$ , що відповідає ККМ даної ПАР і корелює з величиною, знайденою спектрофотометричним методом (рис. 4). Постійні значення  $pK_{a1}^a$  рутину в міцелярних розчинах КПАР в широкому інтервалі концентрацій, які перевищують ККМ, свідчать про повне зв'язування міцелами іонної і молекулярної форм.

Зменшення  $pK_{a1}^a$  рутину в організованому середовищі КПАР в порівнянні з водними розчинами можна пояснити в рамках моделі псевдофазного іонного обміну, яка детально описана в [20, 24, 27]. В міцелах іонних ПАР заряджені гідрофільні головки утворюють навколо вуглеводневої частини так званий шар Штерна, в якому частина іонних головок (від 60 % до 90 %) екранована протийонами, що знаходяться там.

Решта протийонів розташована в дифузному шарі Гуї-Чепмена. Більшість авторів вважає, що саме шар Штерна (або, точніше, область Штерна) є місцем локалізації іонізуючих груп реагенту [20, 24, 27]. Виходячи з больцманівського розподілу іонів поблизу зарядженої поверхні, можна очікувати згущення гідроксильних іонів поблизу позитивно зарядженої поверхні. На рис. 6 наведена схема можливої локалізації рутину у шарі Штерна з урахуванням структурних особливостей флавоноїда і

БМПА, зокрема, наявності у ПАР амідної «спейсерної» групи.

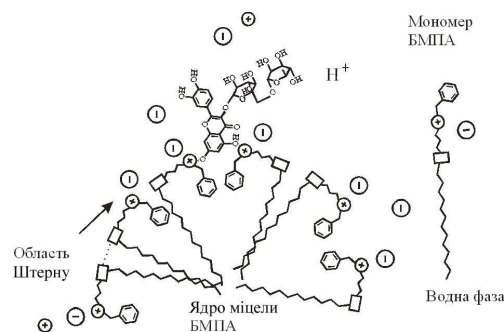


Рис. 6. Модель локалізації рутину у міцелі БМПА

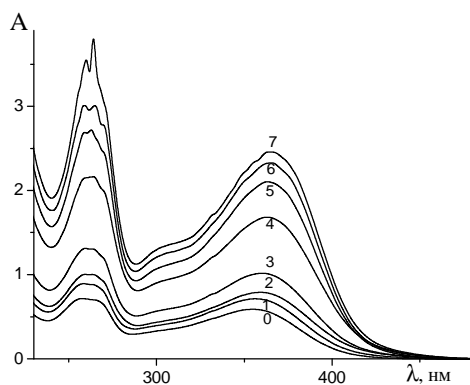
Поверхнево-активні речовини при їх концентрації в розчинах вище ККМ утворюють супрамолекулярні ансамблі - міцели розміром  $40-500 \text{ \AA}$ , що містять велику кількість молекул (до 200) і характеризуються об'ємною ємністю, тобто мають порожнини, які можуть бути заповнені іншими молекулами без порушення термодинамічної стійкості системи. Тому важливою властивістю міцелярних розчинів колоїдних ПАР у воді є їх здатність до сольобілізації (колоїдного розчинення) практично нерозчинних у воді речовин з утворенням термодинамічно стійких рівноважних ізотропних розчинів. У міцелі субстрат може утримуватися за рахунок сил електростатичної та гідрофобної взаємодії, а також водневого зв'язування. Він може знаходитися на поверхні міцели, орієнтуватися радіально, тобто полярна група – на поверхні, а неполярні – в ядрі міцели, або повністю занурюватися в ядро. Таким чином, всі зміни властивостей субстрату у розчинах ПАР відбуваються не в основній масі розчинника, а тільки в мікрооточенні частки органічного реагенту, тобто локально.

Сольобілізація полярних гідрофобних органічних речовин відбувається шляхом введення їх молекул в поверхневий шар міцел, де полярні групи орієнтуються у водну фазу, тому що енергія зв'язку полярних груп з водою перешкоджає повному залученню молекул сольобілізата в ядро міцели. Така орієнтація обумовлена дифільним характером цих речовин і характерна, зокрема, для рутину, що має в складі молекули великий гідрофільний замісник рутінозу (рис. 6).

Поверхнево-активні речовини використовують у медицині та фармакології для пі-

двищення розчинності лікарських речовин і транспорту ліків в організмі [29, 30]. Солубілізація сприяє отриманню лікарських засобів з високою дисперсністю, що призводить до швидкого і повного їх всмоктування. Крім того, деякі солубілізатори мають здатність підсилювати фармакологічну дію лікарських засобів, що дозволяє знижувати їх дози. Вивчення фізико-хімічних властивостей і здатності до солубілізації ПАР дає можливість розробляти оптимальну рецептуру ліків, що містять солубілізовані лікарські речовини, а також створювати стійкі дисперсні системи таких лікарських форм, як розчини, емульсії, аерозолі та ін.

Збільшення розчинності кверцетину та рутину було раніше виявлено в організованих середовищах, утворених  $\beta$ -циклодекстрином, САЛ та ПВП [10, 16–19], яке відбувалося за рахунок утворення водорозчинних супрамолекулярних комплексів. Вивчення розчинності рутину у водних розчинах БМПА в широкому інтервалі концентрацій (0,0–0,01 М) проводили в аналогічних умовах; концентрацію розчиненого флавоноїду в розчинах після встановлення рівноваги визначали спектрофотометрично. З рис. 7 видно, що в розчині зі збільшенням концентрації БМПА розчинність флавоноїду істотно зростає.



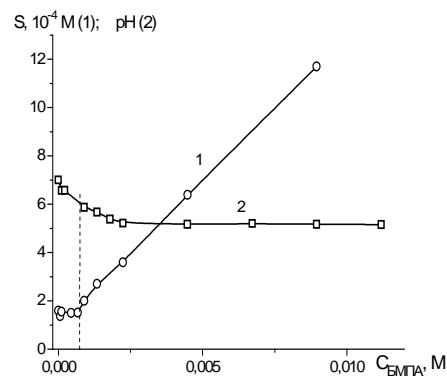
**Рис. 7.** Спектри поглинання рутину при його розчиненні у водних розчинах, що містять різні концентрації БМПА  $C_{\text{БМПА}}, 10^{-3} \text{ М}$ : 0,0 (0), 0,90 (1), 1,34 (2), 2,24 (3), 4,48 (4), 6,72 (5), 8,96 (6), 11,2 (7),  $l=0,1 \text{ см}$

Експериментально було встановлено, що із збільшенням концентрації БМПА до величини  $C_{\text{БМПА}} \sim 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  процес розчинення рутину супроводжується зменшенням рН розчину від  $\text{pH}=7$  ( $C_{\text{БМПА}} = 0$ ) до  $\text{pH} = 5$  (рис. 8, крива 2). Це необхідно було врахувати при спектрофотометричному визначенні рівноважної концентрації рутину в розчи-

ні, оскільки раніше було знайдено, що абсорбція флавоноїдів у розчинах залежить як від концентрації БМПА (рис. 3), так і від рН (рис. 1). Для розрахунку розчинності рутину у водному розчині ( $S_{\text{в}}$ ) та у розчинах БМПА ( $S$ ), виходячи з величин його абсорбції, були використані відповідні молярні коефіцієнти поглинання рутину, знайдені експериментально для кожної концентрації БМПА з урахуванням конкретного значення рН рівноважного розчину.

Різкий перегин залежності розчинності флавоноїду від концентрації БМПА (рис. 8, крива 1) спостерігається при  $C_{\text{БМПА}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ , яка відповідає величині ККМ даної ПАР. Знайдена величина ККМ добре узгоджується з даними, отриманими при вивченні спектральних і протолітичних властивостей системи КПАР–рутин (рис. 4, 5). Слід зазначити, що саме величина ККМ є принциповою при вирішенні питання підвищення розчинності речовин за рахунок солубілізації.

Підвищення розчинності обумовлено включенням молекул рутину до складу міцел (процесами солубілізації в міцелярній фазі). Згідно сучасним уявленням, в розчині, в залежності від концентрації ПАР, можливе утворення декількох типів міцел, що відрізняються своєю формою. Спочатку утворюються сферичні міцели, а при збільшенні концентрації ПАР їхня форма може змінюватися на пластинчасті і циліндричні.



**Рис. 8.** Залежність розчинності (1) та рН розчину (2) рутину від концентрації БМПА у розчинах

У нашому випадку в області концентрації БМПА  $1,0 \cdot 10^{-3} - 1,2 \cdot 10^{-2} \text{ М}$  спостерігається лінійне збільшення розчинності флавоноїду, що свідчить про постійну солубілізаційну ємність і, згідно [31], є характерним при утворенні сферичних міцел.

Збільшення розчинності рутину у розчинах ПАР в порівнянні з водним розчином було використано для визначення його термодинамічної константи зв'язування ( $K_{\text{р-т}}$ ) з

міцелами БМПА, яка була розрахована за методом, запропонованим в роботі [32], за рівнянням:

$$S/S_b-1 = K_{P_T} (C_{\text{БМПА}} - \text{ККМ}). \quad (8)$$

Результати експериментів були лінеаризовані методом найменших квадратів в координатах  $(S/S_b-1) - (C_{\text{БМПА}} - \text{ККМ})$  (рис. 9) з коефіцієнтом кореляції  $R = 0,999$ . Тангенс кута нахилу отриманої прямої відповідає величині константи зв'язування рутину ( $K_{P_T} = 779$  або  $\lg K_{P_T} = 2,89$ ). Із рисунка також випливає, що збільшення концентрації БМПА до 0,012 М призводить до зростання концентрації рутину у 8 разів.

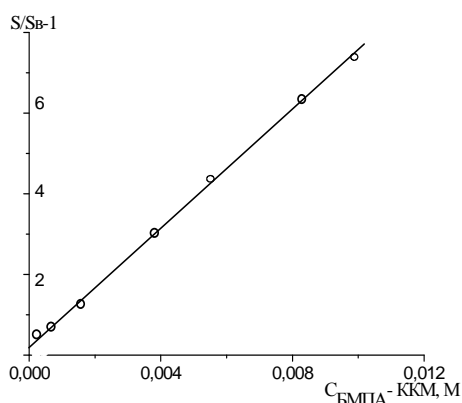
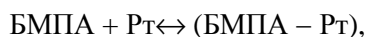
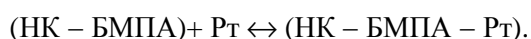
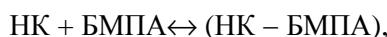


Рис. 9. Залежність  $S/S_b-1$  від  $C_{\text{БМПА}} - \text{ККМ}$  при розчиненні рутину у водних розчинах БМПА

При створенні лікарських наносистем важливо знати вплив супрамолекулярних взаємодій на процеси адсорбції. Залежно від послідовності окремих стадій можна проводити адсорбцію рутину з розчину в складі супрамолекулярного комплексу з БМПА:



Або спочатку модифікувати поверхню нанокремнезему БМПА, а потім сорбувати рутин:



Підсумковий результат визначається ступенем впливу окремих компонентів на реакційну здатність активних центрів. Ця задача вирішувалася в роботах [16–19], в яких було показано, що входження флавоноїдів до складу супрамолекулярних комплексів з полівінілпір-

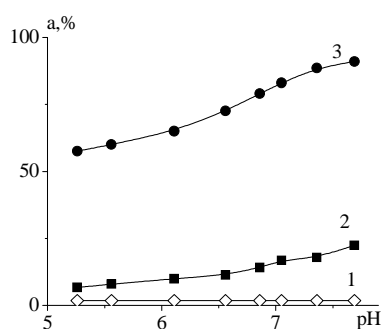
ролідом (ПВП) чи сироватковим альбуміном людини (САЛ) не залежить від схеми їх утворення. Крім того, схема, згідно з якою супрамолекулярний комплекс  $\text{P}_T$ -БМПА утворюється у розчині, а потім сорбується на поверхні кремнезему, набагато ефективніша в технології, тому що виключає стадію висушування модифікованого сорбенту.

Утворення супрамолекулярних комплексів з глобулярним білком САЛ і водорозчинним полімером ПВП істотно впливає на адсорбційні властивості флавоноїдів [16–19]. Так, істотно збільшується величина їх адсорбції, змінюється вид її залежності від рН. Слід зазначити, що БМПА має принципову відмінність від вищезгаданих біополімерів – його властивості залежать від концентрації в розчині, і утворення супрамолекулярних структур можливе тільки в міцелярних розчинах при  $C_{\text{БМПА}} > \text{ККМ}$ . У той же час, БМПА, навіть при  $C_{\text{БМПА}} \ll \text{ККМ}$ , впливає на спектральні і протолітичні властивості флавоноїдів внаслідок утворення асоціатів і змішаних міцел. У зв'язку з цим, становило інтерес дослідити адсорбцію рутину на НК з доміцелярних і міцелярних розчинів БМПА. В якості модельних систем були обрані концентрації БМПА, які відповідають доміцелярним ( $C_0 = 6,72 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ) та міцелярним розчинам ( $C_0 = 2,24 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ ).

Нами було встановлено [19], що сорбція рутину на НК незначна і навіть в оптимальних умовах складає лише  $\sim 5\%$  (рис. 10, крива 1). Рутин у вигляді асоціатів з БМПА (рис. 10, крива 2) сорбується краще, ніж індивідуально.

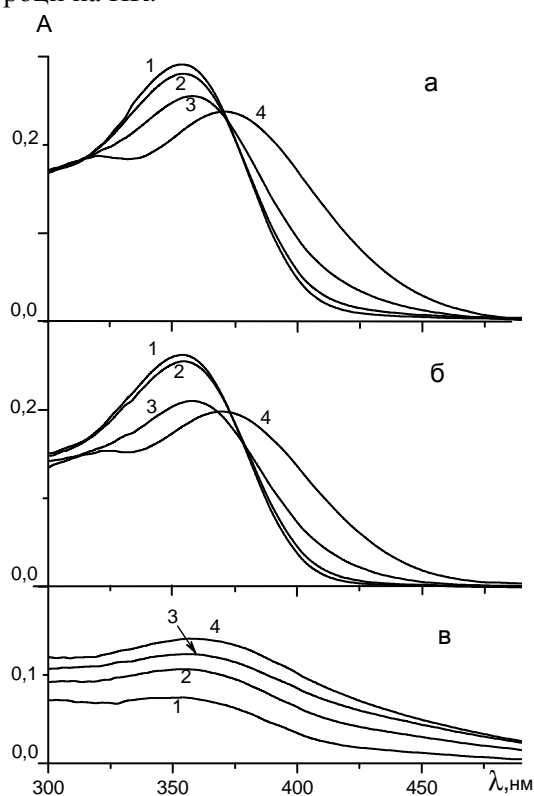
Адсорбція рутину з міцелярних розчинів БМПА значно ефективніша. Так, адсорбція рутину з кислих розчинів становить 58 %, а із збільшенням рН розчину ще зростає, корелюючи з депротонуванням ( $\text{p}K_{\text{al}}^a = 7,0$ ) і досягає максимальної величини (90 %) при рН 8 (рис. 10, крива 3). Катіонна ПАР БМПА покращує сорбційну здатність рутину на поверхні кремнезему за рахунок утворення з ним позитивно заряджених асоціатів і міцел.

Для більш глибокого розуміння адсорбційних взаємодій було розглянуто зміну спектральних характеристик рутину у розчинах і на поверхні НК у процесі адсорбції з розчинів БМПА в широкому інтервалі рН.



**Рис. 10.** Залежність адсорбції рутину (1) та рутину з доміцелярних (2) та міцелярних (3) розчинів БМПА від рН

Перш за все, детально було вивчено зміну спектральних характеристик рутину при адсорбції на НК.



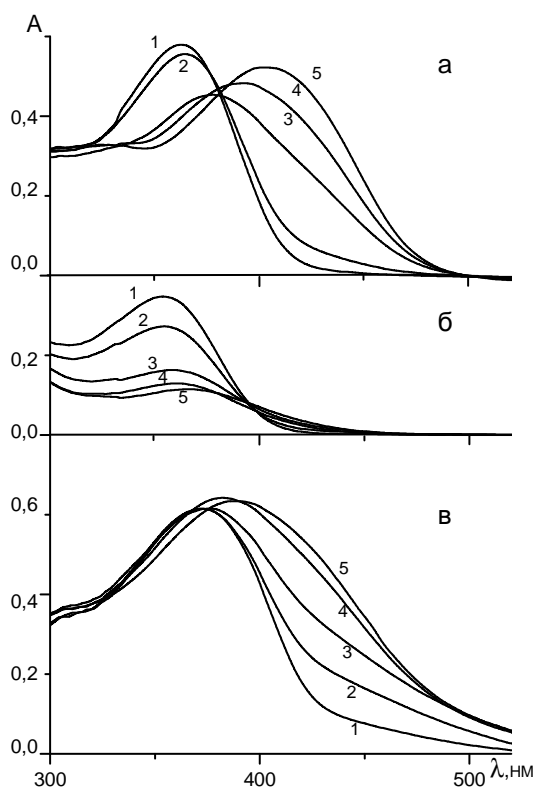
**Рис. 11.** Спектри поглинання Рт-БМПА у доміцелярних розчинах до (а) і після (б) адсорбції, а також на поверхні НК (в) при різних значеннях рН вихідних розчинів.  $C_{Pt} = 2,0 \cdot 10^{-5} M$ ,  $C_{БМПА} = 6,72 \cdot 10^{-5} M$ , рН=5,3 (1), 6,1 (2), 6,9 (3), 7,8 (4), фосфатний буфер,  $l=1 \text{ см}$  (а, б)

Співставлення спектрів поглинання Рт-БМПА в доміцелярних розчинах ПАР (рис. 11 а), після проведення адсорбції (б) і на поверхні НК (в) показало, що світлопоглинання розчинів рутину до і після сорбції від-

різняється лише інтенсивністю, падіння якої пов'язано з адсорбцією на НК.

Положення смуги в області 300-400 нм у спектрах розчинів Рт-БМПА не змінюється в результаті контакту з НК і залежить лише від величини рН розчину. Не зміщується ця смуга і в спектрі адсорбованого Рт-БМПА. Це свідчить про те, що в розчині утворюється асоціат Рт-БМПА, який адсорбується на НК в незмінному вигляді, причому рутин в його складі адсорбується значно ефективніше, ніж з водних розчинів у відсутності КПАР.

Рутин в розчинах після адсорбції залишається тільки в молекулярній формі ( $\lambda_{\text{max}}=357 \text{ нм}$  – рис. 1), а на поверхні НК з розчину з рН=5 сорбується суміш молекулярної і монодепротонованої форм Рт у складі міцел (рис. 12).



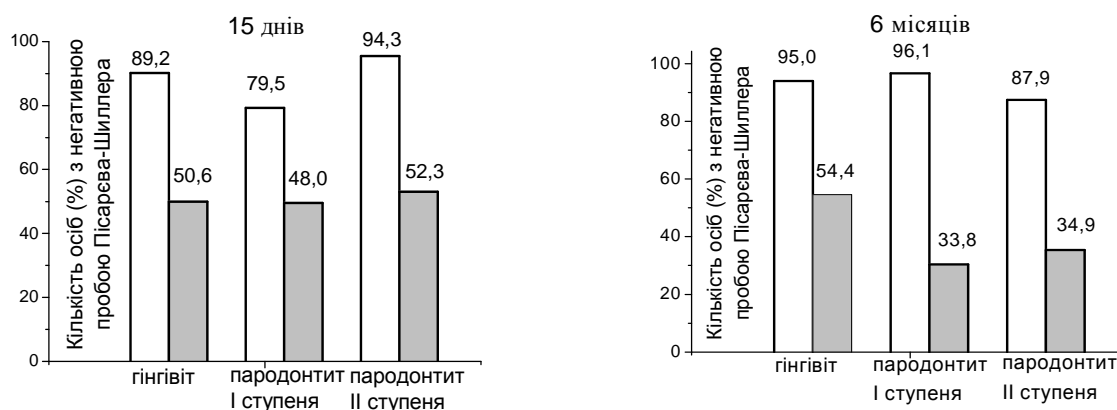
**Рис. 12.** Спектри поглинання Рт-МПА у міцелярних розчинах до (а) і після (б) адсорбції, а також на поверхні НК (в) при різних значеннях рН вихідних розчинів.  $C_{Pt} = 2,0 \cdot 10^{-5} M$ ,  $C_{БМПА} = 2 \cdot 10^{-3} M$ , рН= 5,3 (1), 6,1 (2), 6,9 (3), 7,5 (4), 8,1 (5) фосфатний буфер,  $l = 1 \text{ см}$  (а, б)

Зі збільшенням рН розчину у спектрах адсорбованого рутину спостерігається зростання смуги при 420–430 нм, що відповідає утворенню його діаніону за цих умов.



За результатами фізико-хімічних досліджень наносистеми Рт–БМПА–НК розроблена рецептура трьохкомпонентної стоматологічної пасти для лікування хвороб пародонту, висока ефективність якої була підтверджена медико-біологічними дослідженнями, зокрема зростання процента негативних проб на наявність запальних процесів у пародонті за методом Пісарєва-Шиллера (рис. 13). Раніше нами було проведено аналогічні клінічні дослідження стоматологічної пародонтальної пасти на основі потрійної системи кверце-

тин–БМПА–нанокремнезем. У роботі [12] детально описано методику проведених медико-біологічних досліджень. На рис. 13 приведені результати динаміки клінічних показників хворих на гінгівіт, пародонтити I та II другого ступенів в основній та контрольних групах. У всіх випадках спостерігається більший позитивний лікувальний ефект при застосуванні потрійної системи Рт–БМПА–НК у порівнянні з бінарною БМПА–НК.



**Рис. 13.** Результати динаміки клінічних показників хворих на гінгівіт, пародонтити I та II другого ступенів в основній та контрольних групах

□ Препарат на основі системи нанокремнезем – рутин –БМПА  
 ■ Препарат на основі нанокремнезем – БМПА

Таким чином, проведені клінічні дослідження показали більш високу клінічну ефективність розроблених стоматологічних лікарських засобів на основі системи рутин–БМПА–нанокремнезем у порівнянні з аналогічними лікарськими засобами, до складу яких введено тільки антисептик та сорбент. У всіх групах хворих встановлено добру переносимість пародонтальної пасти при застосуванні, не виявлено протипоказань, побічної дії та алергічних реакцій.

### ВИСНОВКИ

Проаналізовано та узагальнено результати комплексних фізико-хімічних досліджень взаємодії універсального антисептика з групи катіонних ПАР БМПА і природного біоактивного флавоноїду рутину у розчинах і на поверхні нанодисперсного кремнезему.

Встановлено, що зміна спектральних і протолітичних властивостей, розчинності і адсорбції рутину залежить від концентрації КПАР в розчині і принципово змінюються при перевищенні критичної концентрації міцелотворення. У доміцеллярних розчинах БМПА при утворенні асоціатів і змішаних міцел з рутиним спостерігається батохромний зсув їх спектрів поглинання, посилюються кислотні властивості флавоноїду. В міцеллярних розчинах БМПА після досягнення ККМ починає збільшуватися розчинність рутину, а спектральні характеристики, протолітичні властивості залишаються практично без змін.

Встановлено закономірності адсорбційної взаємодії рутину з нанокремнеземом у присутності БМПА. Рутин у складі позитивно заряджених асоціатів і міцел катіонного ПАР адсорбується на нейтральній і негативно заря-

дженій поверхні нанокремнезему ефективніше, ніж індивідуально з водних розчинів.

За результатами фізико-хімічних досліджень наносистеми Рт–БМПА–НК розроблена рецептура трьохкомпонентної стоматологічної пасти для лікування хвороб пародонту. Клінічні випробування показали більш високу ефективність розробленого стоматологічного лікарського препарату, який містить рутин у формі супрамолекулярного комплексу з БМПА у присутності нанокремнезему, у порівнянні з аналогічними лікарськими препаратами, до складу яких введені тільки антисептик і НК.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Чекман И.С., Липкан Г.Н. Растительные лекарственные средства. – Киев: Колос, 1993. – 384 с.
2. Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications /ed. by Ø.M. Andersen, K.R. Markham – London, New York, Boca Raton: CRC Press, 2006. – 1197 p.
3. Машиковский М.Д. Лекарственные средства. – Москва: Новая волна, 2005. – 1200 с.
4. Rice-Evans C., Packer L. Flavonoids in health and disease. – New York: Marcel Dekker, 1998. – 632 p.
5. Guardia T., Rotelli A. E., Juarez A. O. et al. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat // *Farmaco*– 2001. – V. 56, N 9. – P. 683–687.
6. Schwedhelm E., Maas R., Troost R. et al. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress // *Clin. Pharmacokinet.* – 2003. – V. 42, N 5. – P. 437–459.
7. Технология и стандартизация лекарств / Под ред. В.П. Георгиевского, Ф.А. Конева. – Харьков: РИРЕГ, 1996. – 784 с.
8. Фізико-хімія наноструктурованих матеріалів / Под общ. ред. Климова Б.Н., Штыкова С.Н.– Саратов: Изд-во «Новый ветер», 2009. – 217 с.
9. Мчедлов-Петросян Н.О., Лебедь А.В., Лебедь В. И. Коллоидные поверхностно-активные вещества. Харьков: Изд-во ХНУ, 2009. – 72 с.
10. Липковська Н.О., Барвінченко В.М., Погорєлий В.К. Вплив циклодекстрину на властивості кверцетину у водних розчинах // *Фармац. журн.* – 2000. – № 6. – С. 66–69.
11. Куцєвляк В.Ф., Лахтін Ю.В. Індексна оцінка пародонтального статусу. – Суми: ВВП "Мрія-1" ЛТД, 2002. – 80 с.
12. Барвінченко В.М., Липковська Н.О., Чепель Л.І. та ін. Фізико-хімічне обґрунтування складу та клінічні дослідження пародонтальної пасти на основі системи кверцетин–мірамістин–силікс // *Хімія, фізика і технологія поверхності*. 2009. – Вып. 15. – С. 181–188.
13. Liu W., Guo R. Interaction between flavonoid, quercetin and surfactant aggregates with different charges // *J. Colloid Interface Sci.* – 2006. –V. 302, N. 2. – P. 625–632.
14. Liu W., Guo R. The interaction between morin and CTAB aggregates // *J. Colloid Interface Sci.* – 2005. – V. 290, N. 2. – P. 564–573.
15. Liu W., Guo R. Interaction of flavonoid, quercetin with organized molecular assemblies of nonionic surfactant // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* – 2006. – V. 274, N. 1–3. – P. 192–199.
16. Barvinchenko V.M., Lipkovska N.O., Fedyanina T.V. et al. Physico-chemical properties of supramolecular complexes of natural flavonoids with biomacromolecules // *Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry, and Applications.* – Berlin: Springer. – 2009. – P. 303–316.
17. Липковская Н.А., Барвінченко В.Н., Погорєлий В.К. и др. Влияние супрамолекулярных взаимодействий кверцетина с биополимерами на их адсорбцию на поверхности высокодисперсного кремнезема // *Фізико-хімія наноматеріалів і супрамолекулярних структур. Том 2 / Под ред. А.П. Шпака, П.П. Горбика.*– Киев: Наук. думка, 2007. – С. 318–329.
18. Федянина Т.В., Барвінченко В.Н., Липковская Н.А. и др. Влияние комплексообразования с биополимерами на адсорбцию кверцетина на кремнеземе // *Коллоид. журн.* – 2008.– Т. 70, № 2. – С. 240–246.
19. Федянина Т.В., Барвінченко В.Н., Липковская Н.А. и др. Адсорбционное взаимодействие комплекса рутин – биополимер с наночастицами диоксида кремния // *Журн. физ. Химии.* – 2008. – Т. 82, № 9. – С. 1–4.
20. Мчедлов-Петросян Н. О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах. – Харьков: Изд-во ХНУ, 2004. – 326 с.
21. Саввин С.Б., Штыков С.Н., Михайлова А.В. Органические реагенты в спектрофотометрическом анализе // *Успехи химии.* – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 380–389.
22. Государственная Фармакопея СССР: Вып.1 Общие методы анализа 11-е изд. доп. – Москва: Медицина, 1987. – 336 с.
23. William L. Howard, Simon H. Wender. Acid dissociation exponents of rutin and xanthorhamnin // *J. Am. Chem. Soc.*, 1952. – V. 74, N. 1 – P. 143–144.
24. Мчедлов-Петросян Н.О. Протолитические равновесия в лиофильных наноразмерных дисперсиях. Дифференцирующее действие псевдофазы и солевые эффекты. Научное наследие Н. А. Измайлова и актуальные проблемы физической

- химии (под ред. В.И. Лебеда, Н.О. Мчедлова-Петросяна и Ю.В. Холина). Харьков: Изд-во ХНУ, 2007. – 675 с.
25. Саввин С.Б., Чернова Р.К., Штыков С.Н. Поверхностно-активные вещества (Аналитические реагенты). – Москва: Наука, 1991. – 251 с.
26. Organized Solutions. Surfactants in Science and Technology/ Ed. Friberg S.E., Lindman B. – New York–Basel: Marcel Dekker Ink., 1992. – 410 p.
27. Водозлазкая Н.А., Исаенко Ю.В., Гога С.Т. Ультрамикрогетерогенные системы, их влияние на кислотно-основные равновесия и сольватохромные свойства индикаторов. – Харьков: Изд-во ХНУ, 2006. – 64 с.
28. Бернштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. – Ленинград: Химия, 1986. – 199 с.
29. Rangel-Yagui C.O., Pessoa-Jr. A., Tavares L.C. Micellar solubilization of drugs // J. Pharm. Pharmaceut Sci. – 2005. – V. 8, N 2. –P. 147–163.
30. Corrigan O.I., Healy A.M. Surfactants in Pharmaceutical Products and Systems. In: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Marcel Dekker, 2002. – P. 2639–2653.
31. Ланге К.Р. Поверхностно-активные вещества. Синтез, свойства, анализ, применение. – Санкт-Петербург: Профессия, 2005. – 374 с.
32. Яцимирский К.Б., Оситов А.П., Мартинек К. и др. Влияние поверхностно-активных веществ на кинетику реакций в водном растворе // Коллоид. журн. – 1975. – Т. 37, N 3. – С. 526–532.

Надійшла 30.05.2011, прийнята 19.10.11

### **Физико-химические и медико-биологические исследования системы нанокремнезем – рутин – катионное ПАВ**

**Т.В. Федянина, В.Н. Барвинченко, Н.А. Липковская, А.А. Ругаль, Л.И. Чепель**

*Институт химии поверхности им.А.А.Чуйко Национальной академии наук Украины  
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, tfedyanina@gmail.com  
Хмельницький факультет послесереднього освіти  
Винницького національного медичного університету ім. Н.І. Пирогова  
ул.Водопроводна, 8/1, Хмельницький, 28019, Украина*

*Физико-химические исследования системы нанокремнезем–рутин–катионное ПАВ бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид показали, что спектральные и протолитические свойства, растворимость и адсорбция рутина зависят от концентрации ПАВ в растворе и принципиально изменяются при превышении критической концентрации мицеллообразования. По результатам физико-химических исследований наносистемы разработана рецептура трехкомпонентного стоматологического препарата на основе нанокремнезема и рутина в форме супрамолекулярного комплекса с бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил]аммония хлорид, обладающего антисептическими свойствами широкого спектра действия, для лечения болезней пародонта. Высокая лечебная эффективность препарата была доказана медико-биологическими испытаниями.*

### **Physicochemical and biomedical studies of nanosilica – rutin – cationic surfactant system**

**T.V. Fedianina, V.N. Barvinchenko, N.A. Lipkovska, A.A. Rugal, L.I. Chepel**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine  
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, , Ukraine, tfedyanina@gmail.com  
Khmelnitsky Department of Pirogov Vinnytsa State Medical University,  
8/1 Vodoprovodna Str., Khmelnytsky, 28019, Ukraine*

*Physicochemical studies of the system nanosilica–rutin–cationic surfactant bensildimethyl [3-(miristoilamino)propyl] ammonium chloride have shown that spectral and protolytic properties, solubility, and adsorption of routine depend on the concentration of cationic surfactant in solution and crucially change when exceeding the critical micelle concentration. On the basis of research results ternary dental medication containing nanosilica and rutin in the form of a supramolecular complex with bensildimethyl [3-(miristoilamino)propyl] ammonium chloride, which is antiseptic of multipurpose action, was developed for the treatment of periodontal diseases. Clinical trials have shown high efficiency of these medications.*