

Н.О. Ліпковська, В.М. Барвінченко

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНІ ВЗАЄМОДІЇ ПРИРОДНИХ ФЛАВОНОЇДІВ З КАТІОННОЮ ПАР ЕТОНІЄМ В РОЗЧИНАХ І НА ПОВЕРХНІ НАНОКРЕМНЕЗЕМУ

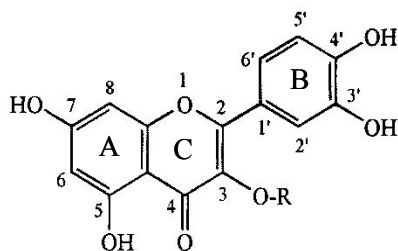
Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала. Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, E-mail: lipkovska@ukr.net

Показано, що супрамолекулярні взаємодії кверцетину та рутину з катіонною димерною поверхнево-активною речовиною етонієм приводять до зміни їх фізико-хімічних властивостей – батохромного зсуву електронних спектрів поглинання, зменшення величин констант дисоціації, суттєвого збільшення розчинності і адсорбції на поверхні нанокремнезему. Встановлено, що адсорбція флавоноїдів в складі супрамолекулярних комплексів з етонієм збільшується на порядок порівняно з водним розчином, а діапазон рН адсорбції визначається властивостями етонію. Визначено константи зв'язування кверцетину ($\lg K_{зв} = 3.71$) та рутину ($\lg K_{зв} = 2.52$) з етонієм.

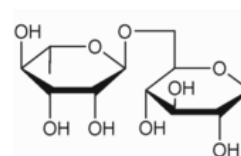
Ключові слова: кверцетин, рутин, етоній, супрамолекулярні взаємодії, розчинність, адсорбція, спектральні, протолітичні властивості

ВСТУП

Природні флавоноїди (Фл) рутин (3-рутинозид-5,7,3',4'-тетрагідроксифлавонон, Рт) і кверцетин (3,5,7, 3',4'-пентагідроксифлавонон, Кв) – представники низькомолекулярних багатоатомних фенолів рослинного походження [1], належать до групи вітамінів Р



Кверцетин: R – H;
Рутин: R – рутиноза



[2] і широко застосовуються у медицині, оскільки мають антиоксидантні властивості [3, 4], виявляють високу протизапальну, протівірусну активність, здатні зменшувати проникність і ламкість капілярів, підвищувати їх резистентність [5, 6].

Використання корисних фармакологічних властивостей флавоноїдів обмежується їх низькою біодоступністю [7–8], спричиненою поганою розчинністю рутину і, особливо, кверцетину у водних середовищах і біологічних рідинах організму, що перешкоджає швидкому досягненню клітин-мішеней і проникненню через фосфоліпідний бішар мембран усередину клітин до уражених субклітинних структур. Збільшення розчинності сполук може відбуватися, зокрема, за рахунок утворення супра-

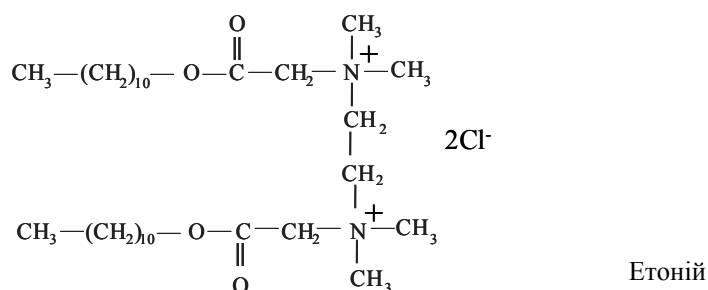
молекулярних комплексів, які можна віднести до наносистем [9]. Наносистеми існують у розчині, утворюючи разом з розчинником так звані організовані середовища, в яких відбувається солубілізація (колоїдне розчинення) практично нерозчинних у воді речовин, змінюються їхні властивості і перебіг хімічних реакцій за рахунок специфічних локальних ефектів в мікрооточенні [10].

Нами було встановлено, що розчинність кверцетину та рутину зростає в організованих

середовищах різної природи і залежить від структури і типу самоорганізації їх молекул у розчині – статичного клубка (полівінілпірролідон), глобули з гідрофобними порожнинами (сироватковий альбумін людини), сферичної міцели (мірамістин), циліндричної міцели (декаметоксин) [11, 12]. Причому цей ефект більший для гідрофобного кверцетину порівняно з гідрофільним рутином. У таких організованих середовищах змінюються також спектральні і протолітичні властивості флавоноїдів [13, 14], істотно збільшується їх адсорбція на поверхні високодисперсного кремнезему [14, 15], який широко використовується в медицині як ентеросорбент [16]. За результатами проведених

фізико-хімічних досліджень було встановлено, що найбільш перспективним солюбілізатором кверцетину та рутину з усіх досліджених сполук є катіонна ПАР мірамістин, який утворює в розчині сферичні міцели. Результати цих досліджень було покладено в основу розробки комплексних лікарських препаратів, що містять нанокремнезем, флавоноїд (кверцетин або рутин) і антисептик мірамістин, для лікування запальних захворювань пародонту [17].

До катіонних ПАР з антисептичною дією належить також етоній (Ет) [2] – біс-четвертинна амонієва сполука, яка виявляє бактеріостатичний та бактерицидний ефекти, ранозагоюючу дію, сприяє регенерації пошкоджених тканин.



За своєю структурою він належить до димерних ПАР, молекули яких характеризуються двома гідрофобними «хвостами» і двома полярними головними групами, які зв'язані між собою спейсерною групою і виявляють амфифільні властивості. Молекула етонію має короткий спейсер $(-\text{CH}_2)_2$ і довгі хвостові групи і, згідно даних літератури [18], може утворювати в розчинах при концентрації вище критичної концентрації міцелоутворення (ККМ) сферичні міцели.

Метою даної роботи було дослідження супрамолекулярних взаємодій структурно однотипних природних флавоноїдів кверцетину і його глікозиду рутину з димерною катіонною ПАР етонієм у широкому інтервалі концентрацій у водних розчинах і на поверхні нанокремнезему.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Вихідні розчини кверцетину і рутину (Sichuan Xieli Pharmaceutical Co. Ltd., Корея) кваліфікації «ч.д.а.», а також етонію (дослідне виробництво Інституту органічної

хімії НАН України) фармакопейної чистоти готували шляхом розчинення точних наважок відповідних препаратів. У всіх експериментах (крім вивчення розчинності) концентрація флавоноїдів становила $2 \cdot 10^{-5}$ М, етанолу – 4 %, іонна сила $I = 0.2$ (NaCl). Електронні спектри поглинання розчинів реєстрували на спектрофотометрі Specord M-40 (Carl Zeiss Jena, Німеччина) з використанням кювети $l = 1$ см. З метою усунення впливу фону спектри обробляли методом гетерохроматичної екстраполяції при двох довжинах хвиль [19]. Кислотність розчинів контролювали за допомогою скляного електрода універсального іонміра Hanna instruments HI 221.

Як сорбент використовували нанокремнезем А-300 (питома поверхня $300 \text{ м}^2/\text{г}$) виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу Інституту хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України у вигляді 5 % водної суспензії, яку готували перемішуванням сорбента ($m = 5.000$ г) з водою ($V = 100$ мл) магнітною мішалкою впродовж 20 хв. Адсорбцію флавоноїдів з

водних розчинів нанокремнеземом вивчали в статичних умовах шляхом їх перемішування при відповідному значенні рН із суспензією сорбента до встановлення рівноваги (2 год) при 293 К. В усіх експериментах загальний об'єм розчину був $V = 20$ мл, маса сорбента $m = 0.1$ г. Після досягнення рівноваги суспензію центрифугували (8000 об/хв, 15 хв) і визначали в розчині рівноважну концентрацію флавоноїдів спектрофотометричним методом, виходячи з відповідних значень молярних коефіцієнтів поглинання його різних протолітичних форм.

Значення адсорбції (a , моль/г) розраховували за формулою:

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

де C_0 – початкова концентрація; $[C]$ – рівноважна концентрація; V – об'єм розчину, мл; m – маса сорбента, г.

При визначенні рівноважної концентрації комплексу Фл – Ет використовували умовний молярний коефіцієнт поглинання ε^R :

$$\varepsilon^R = R / C l, \quad (2),$$

для розрахунку якого відповідне значення оптичної густини R визначали за методом базисної лінії [19]:

$$R = A_{\lambda_{\max}} - (A_{\lambda_1} + A_{\lambda_2}) / 2 \quad (3)$$

за умови $\lambda_{\max} - \lambda_1 = \lambda_2 - \lambda_{\max}$,

де $A_{\lambda_{\max}}$, A_{λ_1} , A_{λ_2} – світлопоглинання розчину при λ_1 та λ_2 відповідно; C – концентрація флавоноїду; l – товщина шару кювети.

При дослідженні розчинності флавоноїдів готували серію водних розчинів етонію з концентрацією в діапазоні $(0-5) \cdot 10^{-2}$ М, додавали надлишок сухого кверцетину або рутину, перемішували на апараті для струшування до досягнення рівноваги (24 год), центрифугували впродовж 10 хв при 2000 об/хв і вимірювали спектри поглинання і рН отриманих розчинів. Температура в усіх експериментах була сталою і становила 293 ± 1 К.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Нами було встановлено, що супрамолекулярні взаємодії рутину та кверцетину з сироватковим альбуміном людини [14], полівінілпірролідом [14], катіонними ПАВ мірамістином та декаметоксином [13] проявляються у зміні спектральних характеристик, зокрема, супроводжуються батохромним зсувом спектрів поглинання, який викликаний збільшенням поляризації молекул флавоноїдів в організованих середовищах різної природи. Вплив етонію на спектральні характеристики флавоноїдів було вивчено при рН = 3.0 і 7.4. На рис. 1 наведені спектри поглинання у видимій області розчинів рутину (а) та кверцетину (б) за відсутності й у присутності етонію. Видно, що в обох випадках спостерігається батохромний зсув смуг поглинання як при збільшенні рН розчину (криві 1, 3), так і при введенні катіонної ПАР (криві 2, 4).

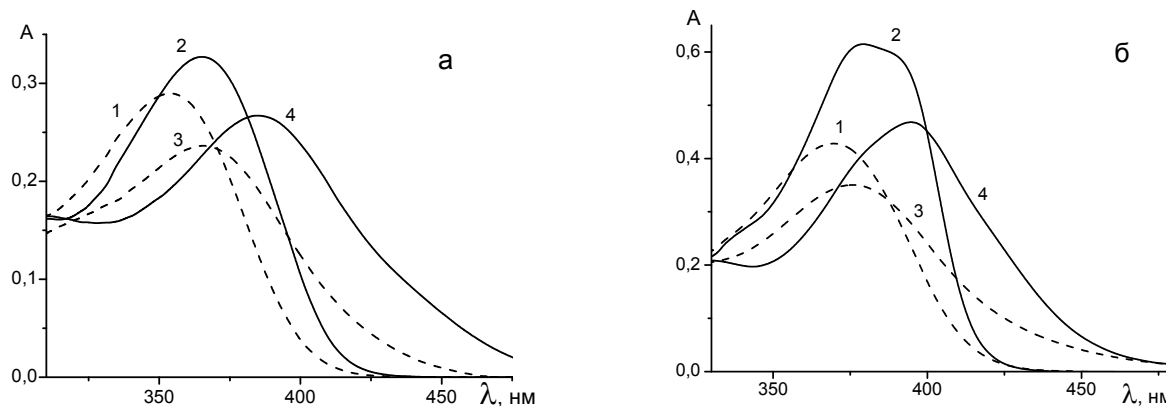


Рис. 1. Спектри поглинання розчинів рутину (а) та кверцетину (б) при рН 3.0 (1, 2) і 7.4 (3, 4) у водному розчині за відсутності (1, 3) та в присутності етонію (2, 4)

Відомо [18], що властивості розчинів ПАР різко змінюються при досягненні величини ККМ. Дослідження впливу етонію на спектральні характеристики кверцетину та рутину, а саме на положення їхніх смуг поглинання, проводили в широкому інтервалі концентрацій етонію в діапазоні обраних

фізіологічних значень рН. Такий підхід дає можливість також визначити ККМ етонію за експериментальних умов. Вплив етонію у широкому інтервалі концентрацій при значеннях рН 3.0 та 7.4 на λ_{\max} спектрів флавоноїдів представлено на рис. 2.

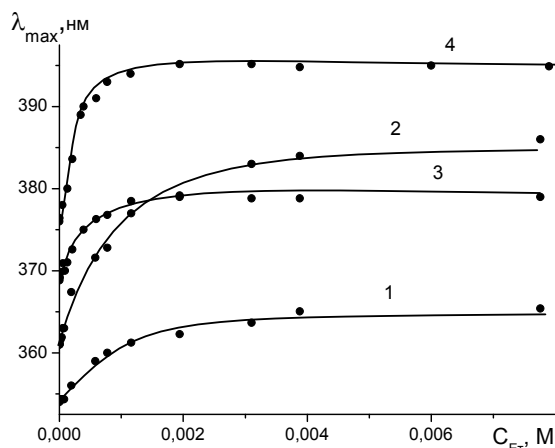


Рис. 2. Залежність λ_{\max} поглинання рутину (1, 2) та кверцетину (3, 4) при рН = 3.0 (1, 3) та 7.4 (2, 4) від концентрації етонію

Введення етонію у розчини кверцетину та рутину призводить до збільшення величини λ_{\max} поглинання, яка досягає граничного значення при концентрації КПАР $\sim 1.5 \cdot 10^{-3}$ М (рис. 2). Перегин наведених кривих при збільшенні концентрації ПАР відповідає ККМ етонію за даних експериментальних умов. При більших концентраціях етонію спектральні характеристики флавоноїдів вже не змінюються, що свідчить про їх повне зв'язування міцелами. При порівнянні кривих видно, що у всіх випадках спостерігається батохромний зсув, значення якого більше при рН = 7.4. Такі зміни спектральних характеристик кверцетину та рутину свідчить про поляризацію їх молекул в розчинах етонію. Для підтвердження цього було вивчено зміну кислотно-основних властивостей флавоноїдів в розчинах етонію.

Кверцетин і рутин за своєю природою є слабкими багатоосновними кислотами ($pK_{a1} = 7.28$ Кв і $pK_{a1} = 7.21$ Рт [13]), які при рН < 5 існують в молекулярній формі, а при рН > 5 – у вигляді суміші молекулярної і депротонованої форм. Порядок дисоціації окремих ОН-груп в молекулах флавоноїдів точно не встановлено, але вважається, що в

кверцетині найбільш кислими є гідроксильні групи в положеннях 3 і 7 [20, 21]. Оскільки зміна спектральних характеристик розчинів кверцетину та рутину в залежності від рН однотипні, а в молекулі рутину ОН-група в положенні 3 відсутня, очевидно, можна зробити висновок, що першою дисоціює ОН група в положенні 7.

Особливості перебігу протолітичних реакцій у розчинах етонію було досліджено в широкому інтервалі його концентрацій і за однакових умов для обох флавоноїдів з метою порівняння їхніх кислотно-основних властивостей. Для кількісної оцінки впливу етонію на кислотно-основні властивості флавоноїдів, а саме на перші константи дисоціації (pK_{a1}), було використано метод розрахунку, заснований на спектрофотометричних даних [22]

$$pK_{a1} = pH_{H_2O} + \lg \left\{ \frac{[ROH]}{[RO^-]} \right\} = pH_{H_2O} + \lg \left[\frac{(A_{RO^-} - A)}{(A - A_{ROH})} \right], \quad (4)$$

де A_{ROH} і A_{RO^-} – оптична густина водних розчинів, що містять флавоноїд в молекулярній (ROH) або депротонованій (RO⁻) формі відповідно; pH_{H_2O} – кислотність

розчину; A – оптична густина розчину флавоноїду, що аналізується.

Оскільки величина pK_a^a характеризує двофазну рівновагу «вода – міцела», значення pH_{H_2O} відноситься до безперервної водної фази, а співвідношення $[ROH]/[RO^-]$ – до міцелярної, то величину pK_a^a в літературі

прийнято називати «уявною» константою іонізації реагента [22]. На рис. 3 представлено залежність знайдених величин констант дисоціації кверцетину та рутину від концентрації етонію. Видно, що катіонна ПАР порізноmu впливає на посилення кислотних властивостей флавоноїдів.

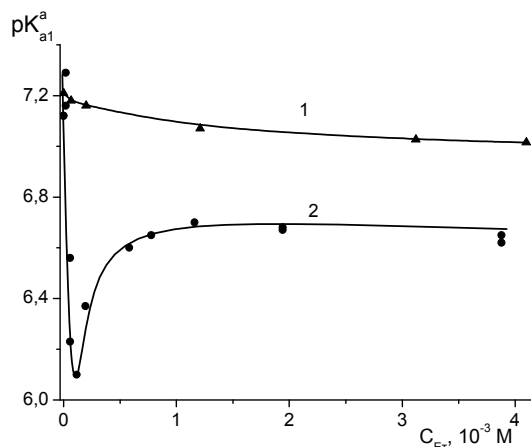


Рис. 3. Залежність першої «уявної» константи дисоціації (pK_{a1}^a) рутину (1) та кверцетину (2) від концентрації етонію

Так, для кверцетину (рис. 3, крива 2) при утворенні асоціатів з етонієм ($C_{Et} \ll KKM$) спостерігається різке зменшення величини його pK_{a1}^a , яка при $C_{Et} = 1 \cdot 10^{-4} M$ досягає мінімального значення: $pK_{a1}^a(\min) = 6.1$. При подальшому збільшенні концентрації етонію до $C_{Et} \sim KKM$, величина pK_{a1}^a кверцетину зростає, досягаючи при $C_{Et} \geq KKM$ сталого значення, втім суттєво нижчого порівняно із значенням pK_{a1}^a у водному розчині. Для рутину (рис. 3, крива 1) зі зростанням концентрації етонію спостерігається поступове зменшення його константи дисоціації pK_{a1}^a (без екстремумів).

Зменшення pK_{a1}^a кверцетину та рутину при концентраціях $C_{Et} \ll KKM$ може бути пов'язано зі зміною характеру взаємодії їх гідроксильних груп з молекулами води під впливом гідрофобних взаємодій з вуглеводневими радикалами катіонної ПАР при утворенні асоціату, що змінює структуру рідкої води в локальному оточенні і, відповідно, величину діелектричної сталої середовища поблизу функціональних груп флавоноїдів. Гідрофобізація іонного асоціату істотно впливає на кислотно-основні властивості органічного реагента, що входить до його складу. Як загальноприйнятий

параметр, що характеризує ліофільні властивості речовини, використовують lgP . Наведені в літературі [23] значення lgP кверцетину ($lgP = 1.480$) і рутину ($lgP = -2.020$) свідчать про те, що кверцетин відноситься до помірно гідрофобних сполук ($1 < lgP < 3$), а рутин – до гідрофільних ($lgP < 1$), що може пояснювати принципово різний вигляд залежностей, наведених на рис. 3. Збільшення кислотності флавоноїдів в міцелярних розчинах етонію, ймовірно, пов'язано з тим, що їхні молекули розташовані в поверхневому шарі міцели, причому іонізуючі групи (як і у випадку інших індикаторних барвників [22]) локалізовані в області Штерна, яка характеризується згущенням гідроксильних іонів поблизу позитивно зарядженої поверхні міцели катіонної ПАР. Міцелярні розчини етонію менше впливають на кислотно-основні властивості рутину, оскільки рутиноза в його молекулі орієнтована в водну фазу. Енергія зв'язування з водою полярних груп великого гідрофільного замісника більшою мірою перешкоджає проникненню молекули даного флавоноїду в ядро міцели порівняно з кверцетином.

Поверхнево-активні речовини при їх концентрації в розчинах вище ККМ утворюють міцели – супрамолекулярні ансамблі, які можуть бути заповнені іншими молекулами без порушення термодинамічної стійкості системи. Тому важливою властивістю міцелярних розчинів колоїдних ПАР у воді є їхня здатність до солюбілізації (колоїдного розчинення) практично нерозчинних у воді речовин з утворенням термодинамічно стійких рівноважних ізотропних розчинів. Солюбілізація полярних гідрофобних органічних речовин [18] відбувається шляхом введення їхніх молекул у поверхневий шар міцел, де полярні групи орієнтуються у водну фазу. При цьому зв'язування полярних груп з водою перешкоджає повному залученню молекул солюбілізату до ядра міцели. Оскільки саме катіонні ПАР вважаються найбільш перспективними солюбілізаторами малорозчинних сполук [24, 25], було досліджено вплив етонію на розчинність флавоноїдів.

Експериментально було встановлено, що із збільшенням концентрації етонію знижується величина рН розчину від 6.4 ($C_{Et} = 0$) до 3.5 ($C_{Et} = 0.004$ М). Ці дані враховувалися при спектрофотометричному визначенні концентрації флавоноїдів при розчиненні, оскільки їх поглинання залежить як від концентрації етонію (рис. 2), так і від рН розчину (рис. 1, 2). Для розрахунку розчинності кверцетину та рутину у водному розчині (S_B) та у розчинах етонію (S) були використані відповідні молярні коефіцієнти поглинання флавоноїдів, які були знайдені експериментально для кожної концентрації етонію з урахуванням конкретного значення рН рівноважного розчину.

Розраховані величини розчинності кверцетину та рутину в розчинах етонію різної концентрації наведені на рис. 4.

Різкий перегиб залежності розчинності флавоноїдів від концентрації етонію спостерігається при $C_{Et} = 1.6 \cdot 10^{-3}$ М, яка відповідає величині ККМ даної ПАР. Знайдена величина ККМ добре узгоджується з даними, отриманими при вивченні спектральних і протолітичних властивостей відповідних систем етоній–флавоноїд (рис. 2, 3).

Катіонні димерні ПАР з короткими спейсерами, до яких належить і етоній, при

концентраціях, які перевищують ККМ, можуть утворювати декілька типів міцел, що різняться своєю формою [26]. Спочатку утворюються сферичні міцели, а при збільшенні концентрації КПАР їхня форма може змінюватися на пластинчасті й циліндричні. Тип міцел можна визначити, зокрема, з типу концентраційної залежності розчинності малорозчинної речовини. У нашому випадку в діапазоні концентрацій етонію $> 1.6 \cdot 10^{-3}$ М спостерігається лінійне збільшення розчинності флавоноїдів, що свідчить про сталу солюбілізаційну ємність і, згідно [18], є характерним при утворенні сферичних міцел.

Збільшення розчинності флавоноїдів у розчинах КПАР (S) порівнянно з водним розчином (S_B) було використано для визначення їхніх термодинамічних констант зв'язування ($K_{зв}$) з міцелями етонію, яка була розрахована із застосуванням методу, запропонованого в роботі [27], за рівнянням:

$$S/S_B - 1 = K_{зв} (C_{Et} - \text{ККМ}). \quad (5)$$

Результати експериментів були лінеаризовані методом найменших квадратів в координатах $(S/S_B - 1) - (C_{Et} - \text{ККМ})$ (рис. 5) з коефіцієнтом кореляції $R = 0.999$ (рутин) та 0.975 (кверцетин). Тангенс кута нахилу отриманих прямих відповідає величинам констант зв'язування з етонієм рутину ($\lg K_{зв} = 2.52$) та кверцетину ($\lg K_{зв} = 3.71$). Таким чином, більш гідрофобний кверцетин утворює більш стійкий супрамолекулярний комплекс.

При створенні лікарських препаратів на основі нанокремнезему важливо знати вплив супрамолекулярних взаємодій на процеси адсорбції. Раніше було встановлено, що утворення супрамолекулярних комплексів флавоноїдів з катіонними ПАР мірамістином і декаметоксином [15] є вирішальним фактором для збільшення їх адсорбції на поверхні нанокремнезему.

Результати дослідження адсорбції флавоноїдів з водних, доміцелярних і міцелярних розчинів етонію залежно від рН наведено на рис. 6. Видно, що адсорбція індивідуальних флавоноїдів на нанокремнеземі незначна і практично не залежить від кислотності розчину при $\text{pH} < 6$.

Для кверцетину максимальне значення адсорбції в кислому середовищі становить

$5 \cdot 10^{-7}$ моль/г або 5 % (рис. 6 б, крива 1). В роботі [28] такий ефект пояснюється утворенням великої кількості водневих зв'язків О-Н...О при сольватації його молекул (енергія сольватації $E_s = 136$ кДж/моль), що перешкоджають їх переходу на поверхню сорбента, а також конкуренцією молекул розчинника з адсорбатом за адсорбційні центри поверхні. Цілком очевидно, що ще менша адсорбція рутину ($2 \cdot 10^{-7}$ моль/г або 2 % – рис. 6 а, крива 1) обумовлена наявністю в його молекулі замісника рутинози, що містить шість гідроксильних груп, які утворюють додаткові (порівнянно з

кверцетином) водневі зв'язки з молекулами води. Із збільшенням рН > 6 кількість адсорбованого кверцетину та рутину зменшується, що пояснюється дисоціацією гідроксильних груп як самих флавоноїдів, так і силанольних груп поверхні ($pK_{SiOH} = 7$ [29]) з утворенням відповідних аніонів, що, відповідно, перешкоджає сорбційними взаємодіям. Навпаки, адсорбція етонію, згідно [30], збільшується з ростом рН розчину і прямо корелює ($R = 0.99$) з кількістю дисоційованих силанольних груп $\equiv SiO^-$, що відповідає іонному механізму зв'язування КПАР з функціональними групами поверхні.

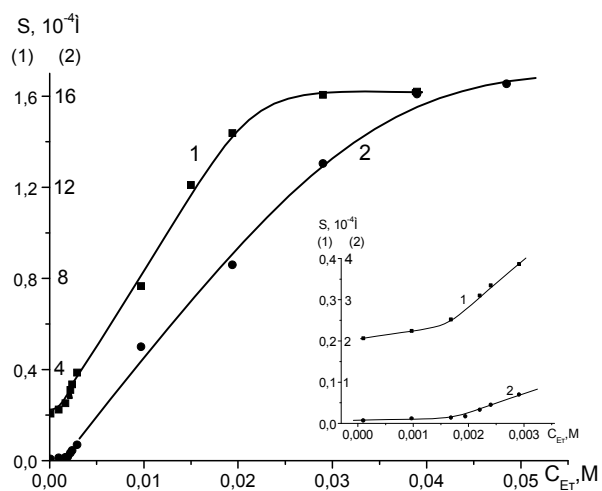


Рис. 4. Залежність розчинності рутину (1) та кверцетину (2) від концентрації етонію ($T = 293$ К)

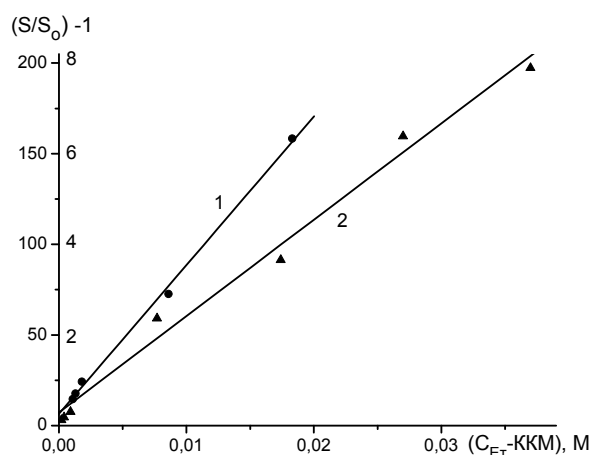


Рис. 5. Залежність $S/S_0 - 1$ від C_{Et-KKM} при розчиненні рутину (1) та кверцетину (2) в водних розчинах етонію

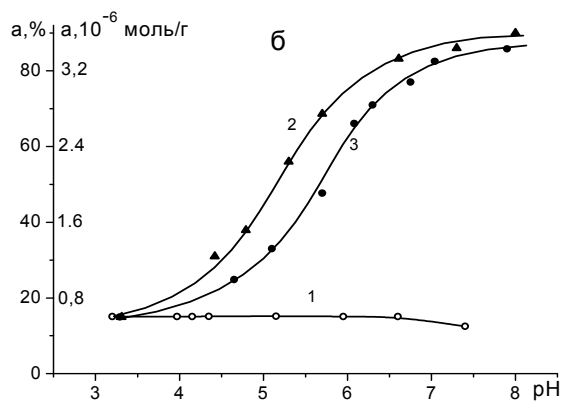
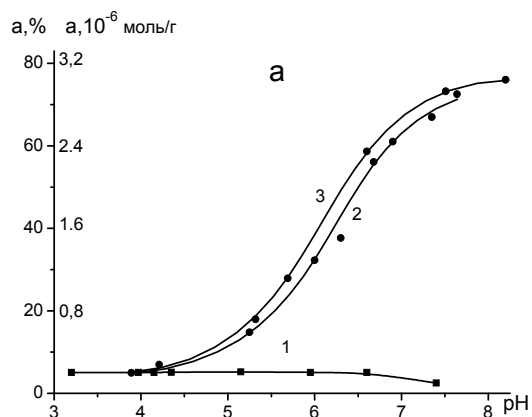


Рис. 6. Адсорбція рутину (а) та кверцетину (б) з водних (1), доміцелярних (2) і міцелярних (3) розчинів етонію залежно від рН розчину. $V = 20$ мл, $m = 0.1$ г, $C_{Pt,KB} = 2.0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{Et} = 2.0 \cdot 10^{-4}$ (2) та $6.0 \cdot 10^{-3}$ (3) М

Результати дослідження адсорбції флавоноїдів з водних розчинів етонію показали (рис. 6), що їх адсорбція як з доміцелярних ($C_{\text{Ет}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$), так і з міцелярних ($C_{\text{Ет}} = 6 \cdot 10^{-3} \text{ М}$) розчинів КПАР збільшується з ростом рН, причому отримані рН-залежності однотипні, а їх вигляд подібний до кривої залежності адсорбції самого етонію від рН [23]. Як видно з рис. 6, ефективність адсорбції обох флавоноїдів істотно зростає в присутності етонію із збільшенням рН > 5. Слід зазначити, що доміцелярні і міцелярні розчини мають практично однаковий вплив на збільшення адсорбції флавоноїдів, з чого можна припустити, що структура поверхневих комплексів, утворених доміцелярними асоціатами і міцелами не має принципових відмінностей. Форма отриманих рН-залежностей свідчить про те, що основний внесок в адсорбцію флавоноїдів на нанокремнеземі в складі супрамолекулярних комплексів з етонієм вносить іонна взаємодія між позитивно зарядженими атомами азоту КПАР і негативно зарядженими дисоційованими силанольними групами.

Підтвердженням адсорбції флавоноїдів у формі супрамолекулярних комплексів є те, що розташування кривих рН-залежності їх адсорбції залежить від $\text{pK}_{\text{a}1}^{\text{a}}$. Так, для рутину встановлено, що крива адсорбції з міцелярного розчину (рис. 6 а, крива 3, $C_{\text{Ет}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$) зсунута в кислу область відносно кривої адсорбції з доміцелярного розчину (рис. 6 а, крива 2, $C_{\text{Ет}} = 2.0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) на ~ 0.2 одиниці рН, що відповідає різниці констант його дисоціації за цих концентрацій етонію (рис. 3, крива 1): $\Delta \text{pK}_{\text{a}1}^{\text{a}} = 7.0 - 7.2 = -0.2$. Навпаки, для кверцетину, різниця констант дисоціації якого при досліджених концентраціях етонію складає: $\text{pK}_{\text{a}1}^{\text{a}}$

($C_{\text{Ет}} = 4 \cdot 10^{-3} \text{ М}$) – $\text{pK}_{\text{a}1}^{\text{a}}$ ($C_{\text{Ет}} = 2.0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) = 6.7 – 6.2 = 0.5 (рис. 3, крива 2), спостерігається зсув кривої адсорбції з міцелярного розчину (рис. 6 б, крива 3) відносно доміцелярного (рис. 6 б, крива 2) в лужну ділянку на ~ 0.5 одиниці рН.

ВИСНОВКИ

Встановлено загальні закономірності зміни фізико-хімічних властивостей кверцетину та рутину в присутності етонію – фармакологічно активної катіонної димерної ПАР – в розчинах і на поверхні високодисперсного кремнезему.

Розчинність, спектральні, кислотно-основні властивості флавоноїдів залежать від концентрації етонію у водних розчинах і принципово змінюються при перевищенні критичної концентрації міцелоутворення. Показано, що супрамолекулярні взаємодії з етонієм приводять до батохромного зсуву в електронних спектрах поглинання, посилення кислотних властивостей та збільшення розчинності флавоноїдів у порівнянні з водними розчинами. В міцелярних розчинах етонію розчинність кверцетину зростає у 200, а рутину лише у 6 разів, що обумовлено значною різницею в їх гідрофобності.

Встановлено закономірності адсорбційної взаємодії флавоноїдів з нанокремнеземом у присутності етонію від рН розчину. Показано, що флавоноїди у складі супрамолекулярних комплексів з катіонною ПАР адсорбуються на поверхні сорбента значно ефективніше, ніж індивідуально з водних розчинів. Адсорбція кверцетину та рутину із розчинів етонію залежить від концентрації даної КПАР, значення рН розчину та від величини констант дисоціації флавоноїдів у складі супрамолекулярного комплексу.

Супрамолекулярные взаимодействия природных флавоноидов с катионным ПАВ этонием в растворах и на поверхности нанокремнезема

Н.А. Липковская, В.Н. Барвинченко

Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала. Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, lipkovska@ukr.net

Показано, что супрамолекулярные взаимодействия кверцетина и рутина с катионным димерным поверхностно-активным веществом этонием приводят к изменению их физико-химических свойств: bathochromному сдвигу электронных спектров поглощения, уменьшению величин констант диссоциации, существенному увеличению растворимости и адсорбции на поверхности нанокремнезема. Определены константы связывания кверцетина ($\lg K_{ce} = 3.71$) и рутина ($\lg K_{ce} = 2.52$) с этонием. Установлено, что адсорбция флавоноидов на поверхности нанокремнезема зависит от концентрации этония, значения pH раствора и величины констант диссоциации флавоноидов в составе супрамолекулярных комплексов.

Ключевые слова: кверцетин, рутин, этоний, супрамолекулярные взаимодействия, растворимость, адсорбция, спектральные, протолитические свойства

Supramolecular interactions of natural flavonoids with cationic surfactant ethonium in solutions and on silica surface

N.O. Lipkovska, V.M. Barvinchenko

Chuiiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17, General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, lipkovska@ukr.net

Quercetin and rutin have potent antioxidant and metal ion chelating capacity, possess various biological, biochemical and therapeutic activity, but their application is limited because of low solubility. Antiseptic cationic gemini surfactant ethonium (2-ethylene-bis-(N-dimethylcarbdexyloximethyl) ammonium dichloride) was considered to be a promising solubilizer for flavonoids.

The supramolecular interactions of quercetin and rutin with ethonium have been studied spectrophotometrically. The bathochromic shift of quercetin and rutin spectra in pre-micellar ethonium solutions testifies an increase in their polarity. Indeed, the calculated values of quercetin and rutin apparent dissociation constants in ethonium solutions are lower than that in water. In micellar solutions the flavonoid spectral characteristics and protolytic properties remain unchanged, whereas the solubility of quercetin and rutin raises 250 and 5 times, respectively. The binding constants of quercetin ($\lg K_b = 3.71$) and rutin ($\lg K_b = 2.52$) with ethonium are determined from the solubility data.

The formation of supramolecular complexes also causes the essential increase of quercetin and rutin adsorption on silica surface at $pH > 5$ both in pre-micellar and micellar ethonium solutions in similar ways. This allows us to assume that the structures of surface complexes formed by pre-micellar associates or micelles have no principal differences. The shape of the obtained pH-dependences of quercetin and rutin adsorption suggests that flavonoids as a part of ethonium supramolecular complexes adsorb on silica mainly through the ionic interactions between the positively charged nitrogen atoms and dissociated silanol groups. The results of physico-chemical study may be a base for the development a composition of new medicinal remedies.

Keywords: quercetin, rutin, ethynium, supramolecular interactions, solubility, adsorption, spectral, protolytic properties

ЛІТЕРАТУРА

1. *Andersen O.M., Markham K.R.* Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications. – London, New York, Boca Raton: CRC Press, 2006. – 1197 p.
2. *Маишковский М.Д.* Лекарственные средства. – Москва: Новая волна, 2005. – 1200 с.
3. *Soobrattee M.A., Neergheen V.S., Luximon-Ramma A.* Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions // *Mutat. Res.* – 2005. – V. 579, N 1/2. – P. 200–213.
4. *Stevenson D.E., Hurst R.D.* Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. – V. 64, N 22. – P. 2900–2916.
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. *Scholz S.G., Williamson G.* Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2007. – V. 77, N 3. – P. 224–235.
7. *Ross J.A., Kasum C.M.* Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety // *Annu. Rev. Nutr.* – 2002. – N 22. – P. 19–34.
8. *Мохорт М.А., Данова І.В., Мисливець С.О.* Фармакодинаміка кверцетину та його лікарських форм // *Фармакологія та лікар. токсикологія.* – 2009. – № 6. – С. 3–7.
9. *Климова Б.Н., Штыкова С.Н.* Физико-химия наноструктурированных материалов. – Саратов: Новый ветер, 2009. – 217 с.
10. *Мчедлов-Петросян Н.О., Лебедь А.В., Лебедь В.И.* Коллоидные поверхностно-активные вещества. – Харьков: ХНУ им. В. Н. Кармазина, 2009. – 72 с.
11. *Липковская Н.А., Барвинченко В.Н., Федянина Т.В., Ругаль А.А.* Зависимость растворимости природных флавоноидов в воде от концентрации мирамистина, поливинилпирролидона и сывороточного альбумина человека // *Журн. физ. химии.* – 2014. – Т. 88, № 5. – С. 882–886.
12. *Липковская Н.А., Барвинченко В.Н., Федянина Т.В., Ругаль А.А.* Физико-химические свойства кверцетина и рутина в водных растворах антисептического препарата декаметоксин // *Журн. прикл. химии.* – 2014. – Т. 87, вып. 1. – С. 40–45.
13. *Липковская Н.А., Барвинченко В.Н., Федянина Т.В., Ругаль А.А.* Спектральные и кислотно-основные свойства гидроксифлавонов в водных растворах катионных гемини-ПАВ // *Журн. прикл. спектроскопии.* – 2014. – Т. 81, № 4. – С. 589–593.
14. *Barvinchenko V.M., Lipkovska N.O., Fedyanina T.V., Pogorelyi V.K.* Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry and Applications. – Dordrecht: Springer, 2009. – P. 303–316.
15. *Барвинченко В.Н., Липковская Н.А., Федянина Т.В., Ругаль А.А.* Влияние супрамолекулярных взаимодействий с катионными ПАВ на адсорбцию флавоноидов на поверхности высокодисперсного кремнезема // *Коллоид. журн.* – 2014. – Т. 76, № 2. – С. 157–163.
16. *Чуйко А.А.* Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. – Киев: Наукова думка, 2003. – 414 с.
17. Пат. 85323 А Україна, А61К 31/14, А61К 31/695, А61К 31/35, А61Р 1/02. Лікарський засіб для лікування запальних захворювань пародонта / Горбик П.П., Барвінченко В.М., Чепель Л.І., Погорелій В.К., Федяніна Т.Ф. – Опубл. 25.01.2009.
18. *Holmberg K.* Handbook of Applied Colloid and Surface Chemistry. – Chishester: Wiley, 2002. – 1110 p.
19. *Бернштейн И.Я., Каминский Ю.Л.* Спектрофотометрический анализ в органической химии – Ленинград: Химия, 1986. – 200 с.
20. *Agrawal P.M., Schneider H.J.* Deprotonation induced ¹³C NMR shifts in phenols and flavonoids // *Tetrahedron Lett.* – 1983. – V. 24, N 2 – P. 177–180.
21. *Kitson T.M., Kitson K.E., Moore S.A.* Interaction of sheep liver cytosolic aldehyde dehydrogenase with quercetin, resveratrol and diethylstilbestrol // *Chem. Biol. Interact.* – 2001. – V.130–132, N 1–3. – P. 57–69.
22. *Водолазкая Н.А., Мчедлов-Петросян Н.О.* Кислотно-основные равновесия индикаторных красителей в организованных растворах. – Харьков: Изд. ХНУ, 2014. – 460 с.
23. Chemical information resources from the National Library of Medicine. <http://sis.nlm.nih.gov/chemical.html>
24. *Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K.* Solubilization of two organic dyes by cationic ester-containing gemini surfactants // *J. Colloid Interf. Sci.* – 2012. – V. 376, N 1. – P.112–118.
25. *Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K.* Solubilization of two organic water-insoluble dyes by anionic, cationic and nonionic surfactants // *Colloid Surf. A.* – 2013. – V.417. – P.133–139.
26. *Bergström L.M., Tehrani-Bagha A.R., Nagy G.* Growth Behavior, Geometrical Shape, and Second CMC of Micelles Formed by Cationic Gemini Esterquat Surfactants // *Langmuir.* – 2015. – V. 31, N 16. – P.4644–4653.
27. *Яцимирский К.Б., Осипов А.П., Мартинек К., Березин И.В.* Влияние поверхностно-активных веществ на кинетику реакций в водном растворе // *Коллоидный журнал.* – 1975. – Т. 37, № 3. – С. 526–532.

28. Казакова О.А, Гунько В.М., Липковская Н.А. и др. Взаимодействие кверцетина с высокодисперсным кремнеземом в водных суспензиях // Коллоидный журнал. – 2002. – Т. 64, № 4. – С. 461–467.
29. Власова Н.Н. Сравнение моделей комплексообразования на поверхности для количественного описания кислотных свойств высокодисперсного кремнезема // Химия, физика и технология поверхности: Межвед. сб. научных тр. – Киев: Наукова думка. – Вып. 14. – 2008. – С. 6–15.
30. Давиденко Н.К., Шевченко Н.М., Власова Н.Н. и др. Адсорбция этония на поверхности высокодисперсного кремнезема // Журн. физ. химии. – 1992. – Т. 66, № 10. – С. 2778–2780.

REFERENCES

1. Andersen O.M., Markham K.R. *Flavonoids. Chemistry, biochemistry and applications*. (London, New York, Boca Raton: CRC Press, 2006).
2. Mashkovsky M.D. *Medicinal products*. (Moscow: Nova Volna, 2005). [in Russian].
3. Soobrattee M.A., Neerghen V.S., Luximon-Ramma A. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutat. Res.* 2005. **579**(1/2): 200.
4. Stevenson D.E., Hurst R.D. Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more. *Cell. Mol. Life Sci.* 2007. **64**(22): 2900.
5. Guardia T., Rotelli A.E., Juarez A.O., Pelzer LE. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Farmaco.* 2001. **56**(9): 683.
6. Scholz S.G., Williamson G. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2007. **77**(3): 224.
7. Ross J.A., Kasum C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu. Rev. Nutr.* 2002. **22**: 19.
8. Mohort M.A., Danova I.V., Mislivets S.O. Pharmacodynamics of quercetin and its dosage forms. *Journal of Drug Toxicology and Pharmacology.* 2009. **6**: 3. [in Ukrainian].
9. Klimov B.N., Shtykov S.N. *Physico-Chemistry of Nanostructured Materials*. (Saratov: Novyi Veter, 2009). [in Russian].
10. Mchedlov-Petrosyan N.O., Lebed A.V., Lebed V.I. *Colloidal surfactants*. (Kharkiv: V.Karazin KhNU, 2009). [in Russian].
11. Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N., Fedyanina T.V., Rugal' A.A. Dependence of the solubility of natural flavonoids in water on the concentration of miramistin, polyvinylpyrrolidone and human serum albumin. *Russ. J. Phys. Chem. A.* 2014. **88**(5): 881.
12. Lipkovskaya N.A., Barvinchenko V.N., Fedyanina T.V., Rugal' A.A. Physicochemical properties of quercetin and rutin in aqueous solutions of decamethoxin antiseptic drug. *Russ. J. Appl. Chem.* 2014. **87**(1): 40.
13. Lipkovska N.A., Barvinchenko V.N., Fedyanina T.V., Rugal' A.A. Spectral and acid-base properties of hydroxyflavones in micellar solutions of cationic surfactants. *J. Appl. Spectrosc.* 2014. **81**(4): 644.
14. Barvinchenko V.M., Lipkovska N.O., Fedyanina T.V., Pogorelyi V.K. *Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry and Applications*. (Dordrecht: Springer, 2009).
15. Barvinchenko V.N., Lipkovskaya N.A., Fedyanina T.V., Rugal' A.A. Effect of supramolecular interactions with cationic surfactants on adsorption of flavonoids on highly dispersed silica surface. *Colloid J.* 2014. **76**(2): 139.
16. Chuiko A.A. *Medical Chemistry and Clinical Application of Silicon Dioxide*. (Kyiv: Nauk. Dumka, 2003). [in Russian].
17. Patent UA 85323 Gorbyk P.P., Barvinchenko V.M., Chepel L.I., Pogorelyi V.K., Fedyanina T.V. Medicinal product for the treatment of periodontal inflammatory diseases. 2009.
18. Holmberg K. *Handbook of Applied Colloid and Surface Chemistry*. (Chishester: Wiley, 2002).
19. Bernshteyn I.Ya., Kaminsky Yu.L. *Spectrophotometric analysis in organic chemistry*. (Leningrad: Khimiya, 1986). [in Russian].
20. Agrawal P.M., Schneider H.J. Deprotonation induced ¹³C NMR shifts in phenols and flavonoids. *Tetrahedron Lett.* 1983. **24**(2): 177.
21. Kitson T.M., Kitson K.E., Moore S.A. Interaction of sheep liver cytosolic aldehyde dehydrogenase with quercetin, resveratrol and diethylstilbestrol. *Chem. Biol. Interact.* 2001. **130–132**(1–3): 57.
22. Vodolazkaya N.A., Mchedlov-Petrosyan N.O. Acid-base equilibria of indicator dyes in organized solutions. (Kharkiv: V. Karazin KhNU, 2009). [in Russian].
23. Chemical information resources from the National Library of Medicine. <http://sis.nlm.nih.gov/chemical.html>

24. Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K. Solubilization of two organic dyes by cationic ester-containing gemini surfactants. *J. Colloid Interf. Sci.* 2012. **376**(1): 112.
25. Tehrani-Bagha A.R., Singh R.G., Holmberg K. Solubilization of two organic water-insoluble dyes by anionic, cationic and nonionic surfactants. *Colloid Surf. A.* 2013. **417**: 133.
26. Bergström L.M., Tehrani-Bagha A.R., Nagy G. Growth Behavior, Geometrical Shape, and Second CMC of Micelles Formed by Cationic Gemini Esterquat Surfactants. *Langmuir.* 2015. **31**(16): 4644.
27. Yatsimirsky K.B., Osipov A.P., Martinek K., Berezin I.V. Effect of surface-active substances on the kinetics of reactions in aqueous solution. *Colloid. J.* 1975. **37**(3): 526. [in Russian].
28. Kazakova O.A., Gun'ko V.M., Lipkovskaya N.A., Voronin E.F., Pogorelyi V.K. Interaction of quercetin with highly dispersed silica in aqueous suspensions. *Colloid J.* **64**(4): 412. [in Russian].
29. Vlasova N.N. Comparison of models of complexation on the surface for the quantitative description of the acid properties of highly dispersed silica. *Chemistry, physics and technology of surface: Interd. Col. scientific papers.* 2008. **14**: 6.
30. Davidenko N.K., Shevchenko N.M., Bogomaz V.I., Vlasova N.N. Adsorption of ethonium on the surface of highly dispersed silica. *J. Phys. Chem.* 1992. **66**(10): 2778.

Надійшла 14.07.2017, прийнята 25.01.2018