

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.10.067>

УДК 541.183: 542.924

**Р.В. Іванніков<sup>1</sup>, І.В. Лагута<sup>2</sup>,  
О.М. Ставинська<sup>2</sup>, О.О. Казакова<sup>2</sup>, Л.І. Буюн<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, Київ

<sup>2</sup> Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України, Київ

E-mail: icvmtt34@gmail.com

## **Прототипи лікарських форм для пролонгованої десорбції антиоксидантів на основі кремнезем-желатинових матриць та екстрактів орхідних**

*Представлено членом-кореспондентом НАН України В.В. Туровим*

*З листя рослин родини орхідних одержано біологічно активні екстракти, досліджено їхні антиоксидантні властивості. З використанням цих екстрактів як біоактивних інгредієнтів отримано желатинові та кремнезем-желатинові плівки з інкорпорованими молекулами антиоксидантів. Вивчено набухання плівок у водному середовищі і десорбцію біоактивних речовин із плівок у воду. Показано, що включення екстрактів в желатинові та кремнезем-желатинові плівки не впливає на властивості цих плівок, тоді як наявність кремнезему зумовлює значне уповільнення набухання плівок та десорбцію з них антиоксидантів. Таким чином, кремнезем-желатинові плівки з інкорпорованими екстрактами орхідних можуть розглядатися як перспективні лікарські форми: компоненти екстрактів є ефективними натуральними антиоксидантами, тоді як кремнезем-желатинові матриці забезпечують їх поступове вивільнення і пролонговану дію.*

**Ключові слова:** екстракти *Orchidaceae* Juss., кремнезем-желатинові плівки, набухання, десорбція.

Желатин — це, як відомо, природний біополімер, що широко використовується в фармацевтичній промисловості для приготування водорозчинних лікарських форм. Такі форми можуть бути виготовлені, наприклад, у вигляді желатинових капсул [1, 2] чи тонких плівок [3]; в останньому випадку діюча речовина розміщується в порах полімерного матеріалу. Попадаючи у водне середовище, желатинові матеріали поглинають воду, набухають та вивільняють активні сполуки. У тих випадках, коли потрібно збільшити час набухання матеріалів та уповільнити десорбцію активних речовин, використовують різноманітні зшивальні агенти [3, 4]. Своєрідним зшивальним агентом може бути високодисперсний кремнезем; ефект уповільнення набухання кремнезем-желатинових матеріалів порівняно з желатиновими обумовлений високою концентрацією на поверхні кремнезему силанольних груп, здатних до взаємодії з молекулами желатину [5, 6].

© Р.В. Іванніков, І.В. Лагута, О.М. Ставинська, О.О. Казакова, Л.І. Буюн, 2019

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2019. № 10: 67–73

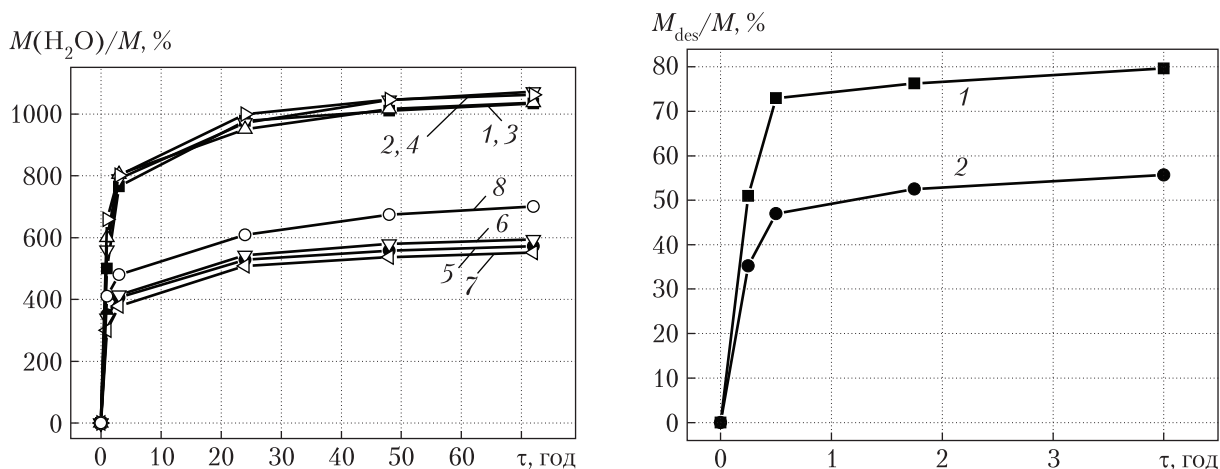
Згідно з даними літератури, приблизно 50 % ліків, що існують сьогодні на ринку, мають природне походження, а діючими речовинами більшості БАДів та лікарських засобів є поліфенольні сполуки рослинного походження [7]. Екстракти рослин родини орхідних також містять значну кількість поліфенольних сполук, завдяки чому виявляють високі антиоксидантні властивості. Введення в желатиновий/кремнезем-желатиновий матеріал таких біоактивних сполук, у свою чергу, може впливати на взаємодію молекул желатину з кремнеземом чи з іншими молекулами желатину, прискорюючи чи уповільнюючи набухання плівок. Є дані, що поліфенольні сполуки, зокрема флавоноїди, самі по собі можуть відігравати роль зшивальних агентів [8, 9]. З іншого боку, наявність додаткових речовин у желатинових/кремнезем-желатинових матеріалах може заважати утворенню зв'язків між молекулами желатину чи між молекулами желатину та кремнеземом, таким чином послаблюючи їх взаємодію і прискорюючи набухання матеріалів.

Метою роботи було одержання і дослідження желатинових/кремнезем-желатинових плівок для пролонгованого вивільнення антиоксидантів з використанням як біологічно активного компонента екстрактів з листя рослин родини орхідних.

Рослинні екстракти одержували із сухого лисття рослин *Dendrobium nobile* Lindl (DNL) та *Anoectochilus formosanus* Hayata (AFH) шляхом екстракції біоактивних речовин в 70 % етанольний розчин; співвідношення сухої речовини та розчинника становило 1 г/100 мл. Також як біологічно активну речовину використовували кверцетин у вигляді 1 мМ розчину в 70 % етанолі. Антиоксидантні властивості розчину та екстрактів оцінювали за допомогою методу Фоліна—Чоколтеу і ДФПГ-тесту [10, 11]. Кількість флавоноїдів у екстрактах (у перерахунку на кверцетин) оцінювали за методикою, що описана в [12].

Желатинові і кремнезем-желатинові матеріали з інкорпорованими антиоксидантами та контрольні зразки желатинових і кремнезем-желатинових матеріалів одержували з використанням желатину фірми "Fluka" та кремнезему марки А-300 з питомою поверхнею 250 м<sup>2</sup>/г. Матеріали готували у вигляді плівок завтовшки близько 0,1 мм; для одержання плівок 2 мл плівкоформульованого розчину желатину чи плівкоформульованої кремнезем-желатинової суспензії виливали тонким шаром на полімерну підкладку та висушували при кімнатній температурі протягом кількох діб. Плівкоформульовані желатинові розчини та кремнезем-желатинові суспензії готували таким чином. У склянку з наважкою кремнезему (0,2 г) додавали 5 мл дистильованої води чи 4 мл води та 1 мл екстракту/розчину кверцетину і перемішували на магнітній мішалці протягом 20 хв. У склянку, що містила 0,5 г желатину, наливали 5 мл води, склянку ставили на водяну баню і перемішували вміст протягом 20 хв до розчинення желатину. Відразу після розчинення желатину до розчину додавали суспензію кремнезему у воді чи в розчині екстракту/кверцетину або 5 мл води/розчину біоактивних сполук і перемішували ще протягом 5 хв. Далі в тексті зразки желатинових та кремнезем-желатинових матеріалів, що містять екстракти DNL і AFH та кверцетин (Q), позначаються Gel—DNL, Si—Gel—DNL, Gel—AFH, Si—Gel—AFH, Gel—Q, Si—Gel—Q відповідно, контрольні зразки желатинових та кремнезем-желатинових плівок — Gel та Si—Gel.

Для вивчення набухання у водному середовищі плівки зважували, додавали воду і за певні інтервали часу визначали приріст маси плівок шляхом їх зважування. Дані щодо набухання плівок наведено у вигляді відношення  $M(H_2O)/M$ , де  $M(H_2O)$  — кількість абсорбованої води,  $M$  — маса плівки.



**Рис. 1.** Набухання желатинових плівок Gel (1), Gel–DNL (2), Gel–AFH (3), Gel–Q (4) та кремнезем-желатинових плівок Si–Gel (5), Si–Gel–DNL (6), Si–Gel–AFH (7), Si–Gel–Q (8) у водному середовищі

**Рис. 2.** Десорбція компонентів екстракту AFH з плівок Gel–AFH (1) та Si–Gel–AFH (2)

Для дослідження десорбції біоактивних сполук зважені шматочки плівок розміщували у склянках, додавали фіксований об'єм води і перемішували протягом 0,25–4 год у термостаті при 25 °С. Кількість десорбованих компонентів екстрактів визначали за зміною УФ спектрів розчинів. Дані щодо кінетики вивільнення активних речовин наведено у вигляді відношення  $M_{des}/M$ , де  $M_{des}$  – кількість десорбованих сполук,  $M$  – їх сумарний вміст у плівці.

Взаємодію желатину, кремнезему та флавоноїду (на прикладі кверцетину) досліджували квантово-хімічним методом; для розрахунків використовували метод РМ7, сольватційна модель COSMO, програмний пакет МОРАС2016 [13].

У табл. 1 наведено результати ДФПГ-тесту, загальний фенольний індекс та дані щодо вмісту флавоноїдів для екстрактів DNL та AFH, а також для 1 мМ розчину кверцетину. Як бачимо, обидва екстракти мають досить високу активність у ДФПГ-тесті і значний загальний вміст фенолів та флавоноїдів. При цьому і загальний фенольний індекс, і вміст флавоноїдів в екстрактах значно менший, ніж у розчині кверцетину.

На рис. 1 наведено дані щодо поглинання води контрольними зразками желатинових та кремнезем-желатинових плівок та желатиновими/кремнезем-желатиновими плівками, що містять екстракти DNL та AFH чи розчин кверцетину. Усі кремнезем-желатинові плів-

**Таблиця 1.** Вміст фенолів і флавоноїдів та антирадикальна активність рослинних екстрактів і розчину кверцетину

Зразок	Загальний фенольний індекс	Вміст флавоноїдів у розчині, мМ	Частка радикалів ДФПГ, інгібованих за 30 хв, %
Екстракт DNL	0,8	0,04	28
Екстракт AFH	0,7	0,09	84
Розчин кверцетину	3,3	1	100

**Таблиця 2.** Вільна енергія взаємодії кверцетину з фрагментами желатину та силанольними групами кремнезему

Комплекс	$-\Delta G$ , кДж/моль
Желатин–кверцетин	16
Кверцетин–кремнезем	29
Желатин–кремнезем	47

ки характеризуються значно меншим спорідненням до води, ніж відповідні желатинові матеріали. Таким чином, кремнезем є ефективним зшивальним агентом і для чисто желатинових матеріалів, і для плівок, що містять біологічно активні сполуки. Присутність у плівках рослинних екстрактів не призводить до значних змін у набуханні плівок: відповідні криві для контрольних зразків і желатинових, і кремнезем-желатинових плівок практично не відрізняються від кривих для плівок з екстрактами (див. рис. 1).

Усі желатинові плівки майже однаково поглинають воду (див. рис. 1, криві 1–4), при цьому можливий ефект флавоноїдів як зшивальних агентів для молекул желатину не спостерігається. У той же час кремнезем-желатинові плівки, що містять кверцетин у значній концентрації (крива 8), характеризуються помітно більшим набуханням порівняно з іншими кремнезем-желатиновими плівками (криві 5–7). Оскільки наявність кверцетину, як це видно з порівняння кривих 1 та 4, не має значного впливу на поведінку чисто желатинових плівок, можна припустити, що вплив флавоноїду на набухання кремнезем-желатинових матеріалів пов'язаний з його взаємодією з кремнеземом. Можливо, завдяки адсорбції кверцетину на поверхні кремнезему здійснюється блокування частини силанольних груп кремнезему, які в подальшому не можуть брати участь у формуванні зв'язків з молекулами желатину.

Зроблене припущення підтверджується результатами квантово-хімічного дослідження взаємодії желатину, кремнезему та кверцетину. Як можна бачити з даних табл. 2, вільна енергія взаємодії кверцетину з кремнеземом значно вища, ніж енергія взаємодії кверцетину з желатином. Тобто вплив кверцетину на взаємодію кремнезему та желатину пов'язаний, імовірно, з адсорбцією кверцетину на поверхні кремнезему, ніж із взаємодією флавоноїду з желатином.

Відомо, що проникнення води в желатинові плівки і дифузія компонентів плівки у водний розчин — це дві сторони одного процесу розчинення желатинового матеріалу внаслідок його контакту з водним середовищем [14]. Відповідно, уповільнення набухання, що спостерігається у випадку кремнезем-желатинових композитів, має також зумовлювати уповільнення десорбції з них інкорпорованих біоактивних сполук. Це підтверджується даними щодо десорбції компонентів екстрактів з желатинової та кремнезем-желатинової плівок у водний розчин, як показано на рис. 2 на прикладі матеріалів, що містять екстракт АРН. Як можна бачити із рис. 2, через 4 год десорбції із желатинових плівок у розчин переходить більше ніж 75 % рослинного екстракту, тоді як із кремнезем-желатинових плівок вивільняється тільки близько 50 % інкорпорованих біологічно активних сполук.

Таким чином, одержані дані показують, що використання желатинових та кремнезем-желатинових матеріалів дає змогу здійснювати поступове вивільнення компонентів рослинних екстрактів у водне середовище. Кремнезем-желатинові матеріали характеризуються меншим набуханням у водних розчинах порівняно з желатиновими плівками і, відповідно, меншою швидкістю десорбції активних речовин. Високі концентрації флавоноїдів у кремнезем-желатинових суспензіях, очевидно, можуть впливати на взаємодію кремнезему та желатину, зменшуючи індукований кремнеземом ефект уповільнення набухання плівок та десорбції інкорпорованих речовин.

*Дослідження виконано за підтримки цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України “Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біо-*

технологій” та гранта Президента України докторам наук для здійснення наукових досліджень на 2019 рік (Ф-84).

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Ciper M., Bodmeier R. Modified conventional hard gelatin capsules as fast disintegrating dosage form in the oral cavity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006. **62**, № 2. P. 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.08.014>
2. Buice R.G., Gold T.B., Lodder R.A., Digenis G.A. Determination of moisture in intact gelatin capsules by near-infrared spectrophotometry. *Pharm. Res.* 1995. **12**, № 1. P. 161–163. <https://doi.org/10.1023/A:1016219611132>
3. Cetin E.O., Buduneli N., Atlthan E., Kirilmaz L. In vitro studies of degradable device for controlled release of meloxicam. *J. Clin. Periodontol.* 2005. **32**, № 7. P. 773–777. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00755.x>
4. Fujitsu M., Hattori M., Tamura T. Effect of hydroxyl compounds on gel formation of gelatin. *Colloid Polym. Sci.* 1997. **275**, № 1. P. 67–72. <https://doi.org/10.1007/s003960050053>
5. Stavinskaya O., Laguta I., Orel I. Silica-gelatin composite materials for prolonged desorption of bioactive compounds. *Mater. Sci. Medzg.* 2014. **20**, № 2. P. 171–176. <https://doi.org/10.5755/j01.ms.20.2.4966>
6. Smitha S., Mukundan P., Krishna P., Warriar K.G.K. Silica-gelatin bio-hybrid and transparent nano-coatings through sol-gel technique. *Mater. Chem. Phys.* 2007. **103**, № 2–3. P. 318–322. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.02.068>
7. Ferreira V.F., Pinto A.C. A fitoterapia no mundo atual. *Quim. Nova.* 2010. **33**, № 9. 1829. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000900001>
8. Zhang X., Do M.D., Casey P., Sulistio A., Qiao G.G., Lundin L., Lillford P., Kosaraju S. Chemical cross-linking gelatin with natural phenolic compounds as studied by high-resolution NMR spectroscopy. *Biomacromolecules.* 2010. **11**, № 4. P. 1125–1132. <https://doi.org/10.1021/bm1001284>
9. Zhao Y., Li Z., Yang W., Xue C., Wang Y., Dong J., Xue Y. Modification of gelatine with *Galla chinensis* extract, a natural crosslinker. *Int. J. Food Prop.* 2016. **19**, № 4. P. 731–744. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1013633>
10. Alonso A.M., Domianguéz C., Guilleán D., Barroso C.G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *J. Agric. Food Chem.* 2002. **50**, № 11. P. 3112–3115. <https://doi.org/10.1021/jf0116101>
11. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.* 1995. **28**, № 1. P. 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
12. Комарова М.Н., Николаева Л.А., Регир В.Г. Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья: методические указания к лабораторным занятиям. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, 1998. 60 с.
13. Stewart J.J.P. MOPAC2016. Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA. 2016. URL: <http://openmopac.net>
14. Пасынский А.Г. Коллоидная химия: учебник для вузов. Москва: Высш. шк., 1959. 258 с.

Надійшло до редакції 13.06.2019

#### REFERENCES

1. Ciper, M. & Bodmeier, R. (2006). Modified conventional hard gelatin capsules as fast disintegrating dosage form in the oral cavity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 62, No. 2, pp. 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.08.014>
2. Buice, R.G., Gold, T.B., Lodder, R.A. & Digenis, G.A. (1995). Determination of moisture in intact gelatin capsules by near-infrared spectrophotometry. *Pharm. Res.*, 12, No. 1, pp. 161-163. <https://doi.org/10.1023/A:1016219611132>
3. Cetin, E.O., Buduneli, N., Atlthan, E. & Kirilmaz, L. (2005). In vitro studies of degradable device for controlled release of meloxicam. *J. Clin. Periodontol.*, 32, No. 7, pp. 773-777. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00755.x>

- Fujitsu, M., Hattori, M. & Tamura, T. (1997). Effect of hydroxyl compounds on gel formation of gelatin. *Colloid Polym. Sci.*, 275, No. 1, pp. 67-72. <https://doi.org/10.1007/s003960050053>
- Stavinskaya, O., Laguta, I. & Orel, I. (2014). Silica-gelatin composite materials for prolonged desorption of bioactive compounds. *Mater. Sci. Medzg.*, 20, No. 2, pp. 171-176. <https://doi.org/10.5755/j01.ms.20.2.4966>
- Smitha, S., Mukundan, P., Krishna, P. & Warriar, K.G.K. (2007). Silica-gelatin bio-hybrid and transparent nano-coatings through sol-gel technique. *Mater. Chem. Phys.*, 103, No. 2-3, pp. 318–322. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.02.068>
- Ferreira, V.F. & Pinto, A.C. (2010). Phytotherapy in the world today. *Quim. Nova*, 33, No. 9, pp. 1829 (in Portuguese). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000900001>
- Zhang, X., Do, M.D., Casey, P., Sulistio, A., Qiao, G.G., Lundin, L., Lillford, P. & Kosaraju, S. (2010). Chemical cross-linking gelatin with natural phenolic compounds as studied by high-resolution NMR spectroscopy. *Biomacromolecules*, 11, No. 4, pp. 1125-1132. <https://doi.org/10.1021/bm1001284>
- Zhao, Y., Li, Z., Yang, W., Xue, C., Wang, Y., Dong, J. & Xue, Y. (2016). Modification of gelatine with *Galla chinensis* extract, a natural crosslinker. *Int. J. Food Prop.*, 19, No. 4, pp. 731-744. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1013633>
- Alonso, A.M., Domínguez, C., Guilleán, D. & Barroso, C.G. (2002). Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *J. Agric. Food Chem.*, 50, No. 11, pp. 3112-3115. <https://doi.org/10.1021/jf0116101>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.*, 28, No. 1, pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Komarova, M.N., Nikolaeva, L.A. & Regir, V.G. (1998). Phytochemical analysis of medicinal plants: guidelines for laboratory studies. St. Petersburg: Sankt-Peterburgskaya gosudarstvennaya khimiko-farmatsevticheskaya akademiya (in Russian).
- Stewart, J.J.P. (2016). MOPAC2016. Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA. Retrieved from <http://openmopac.net>
- Pasynsky, A.G. (1959). Colloidal chemistry: a textbook for high schools. Moscow: Vysshaya shkola (in Russian).

Received 13.06.2019

*Р.В. Иванников*<sup>1</sup>, *И.В. Лагута*<sup>2</sup>,  
*О.Н. Ставинская*<sup>2</sup>, *О.А. Казакова*<sup>2</sup>, *Л.И. Буюн*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины, Киев

E-mail: [icvmtt34@gmail.com](mailto:icvmtt34@gmail.com)

#### ПРОТОТИПЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ДЕСОРБЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ НА ОСНОВЕ КРЕМНЕЗЕМ-ЖЕЛАТИНОВЫХ МАТРИЦ И ЭКСТРАКТОВ ОРХИДНЫХ

Из листьев растений семейства орхидных получены биологически активные экстракты, исследованы их антиоксидантные свойства. С использованием этих экстрактов в качестве биоактивных ингредиентов получены желатиновые и кремнезем-желатиновые пленки с инкорпорированными молекулами антиоксидантов. Изучено набухание пленок в водной среде и десорбция биоактивных веществ из пленок в воду. Показано, что включение экстрактов в желатиновые и кремнезем-желатиновые пленки не влияет на свойства этих пленок, в то время как присутствие кремнезема приводит к значительному замедлению набухания пленок и десорбции из них антиоксидантов. Таким образом, кремнезем-желатиновые пленки с внедренными экстрактами орхидных могут рассматриваться как перспективные лекарственные формы: компоненты экстрактов являются эффективными натуральными антиоксидантами, тогда как кремнезем-желатиновые матрицы обеспечивают постепенное высвобождение антиоксидантов и их пролонгированное действие.

**Ключевые слова:** экстракты *Orchidaceae* Juss., кремнезем-желатиновые пленки, набухание, десорбция.

R.V. Ivannikov<sup>1</sup>, I.V. Laguta<sup>2</sup>,  
O.N. Stavinskaya<sup>2</sup>, O.O. Kazakova<sup>2</sup>, L.I. Buyun<sup>1</sup>

<sup>1</sup> M.M. Gryshko National Botanic Garden of the NAS of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup> Chuiko Institute of Surface Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: icvmtt34@gmail.com

PROTOTYPES OF DOSAGE FORMS  
FOR PROLONGED RELEASE OF ANTIOXIDANTS  
ON THE BASIS OF A SILICA-GELATINE MATRIX  
AND ORCHIDS EXTRACTS

Bioactive extracts from the leaves of the plants of *Orchidaceae* Juss. are prepared, and antioxidant properties of the extracts are investigated. Gelatine and silica-gelatine films with incorporated antioxidants molecules are obtained using the extracts as bioactive ingredients. The swelling of the films in the aqueous medium and the desorption of the bioactive compounds into water are studied. The inclusion of the extracts in both gelatine and silica-gelatine films are found not to affect the films properties, while the presence of silica in the films led to a significant retardation of the swelling of films and to a deceleration of the antioxidants desorption. Thus, the silica-gelatine films with embedded orchid extracts seem to be promising dosage forms for the prolonged antioxidants release: the components of the extracts are effective natural antioxidants, while the silica-gelatine matrix provides their gradual release and prolonged action.

**Keywords:** *Orchidaceae* Juss. extracts, silica-gelatine films, swelling, desorption.