

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-3-33-41>

УДК 577.11; 581.19

Сферические аморфные наночастицы из тритерпеноидов бересты: изучение условий образования

А.Н. Бастрич¹, А.Е. Степанов¹, Н.Н. Лони́на¹, В.И. Попенко², А.П. Каплун^{1,@}

¹МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова), Москва 119571, Россия

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва 119991, Россия

@ Автор для переписки, e-mail: alex.kaplun@mail.ru

Тритерпеноиды из коры бересты представляют собой ценные биологически активные вещества. Они проявляют антигипоксантную, противовоспалительную и иммуномодуляторную, антитуберкулезную, ноотропную и другие виды активности. Однако вследствие своей гидрофобности они практически не растворимы в воде. Для повышения биодоступности нами была разработана методика получения сферических аморфных наночастиц (САНЧ) осаждением водой из раствора в тетрагидрофуране (ТГФ). В форме наночастиц тритерпеноиды бересты проявляют дополнительные полезные свойства: они могут быть загружены гидрофобными лекарственными субстанциями, что позволяет солюбилизовать эти вещества; САНЧ показали себя также как эффективные иммунологические адъюванты. Настоящее исследование посвящено изучению условий (варьирование растворителей, температуры, порядка смешения компонентов, соотношения объемов), которые позволяют оптимизировать их получение. В результате было показано, что из трех исследованных растворителей, смешивающихся с водой: ацетон, диоксан, ТГФ, – последний дает наилучшие результаты; пониженная температура процесса получения приводит к уменьшению размера САНЧ, повышенная – к образованию кристаллов бетулина; при концентрации тритерпеноидов в ТГФ более 5 мг/мл также начинают образовываться кристаллы бетулина. На основании результатов данного исследования делается предположение о том, что главным параметром процесса, определяющим образование САНЧ, является скорость диффузии растворителя в воду.

Ключевые слова: тритерпеноиды бересты, бетулин, лупеол, сферические аморфные наночастицы, осаждение водой из органического растворителя.

Spherical Amorphous Nanoparticles from Birch Bark Triterpenoids: Study of the Conditions for the Formation

**Asya N. Bastrich¹, Alexander E. Stepanov¹, Natalya N. Lonina¹,
Vladimir I. Popenko², Alexander P. Kaplun^{1,@}**

¹MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow 119571, Russia

²Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow 119991, Russia

@Corresponding author e-mail: alex.kaplun@mail.ru



Triterpenoids from birch bark are valuable biologically active substances. They exhibit important biological properties. However, triterpenoids are insoluble in water due to their hydrophobicity. In order to increase their bioavailability we developed a technique for obtaining spherical amorphous nanoparticles (SANP) by their precipitation with water from a solution in THF. In the form of nanoparticles, triterpenoids show additional useful properties: they can be loaded with hydrophobic substances. SANP were also shown to be effective immunological adjuvants. This article is devoted to the study of conditions that could optimize their production. As a result, it was shown that among the three investigated solvents miscible with water – acetone, dioxane, THF – the latter gives the best results. Lowering temperature decreases the size of SANP. An increased temperature leads to the formation of betulin crystals. When the concentration of triterpenoids in THF is higher than 5 mg/ml, crystals of betulin also begin to form. The results of this study lead to the assumption that the main parameter of the process determining the formation of SANP is the rate of the solvent diffusion into water.

Keywords: birch bark triterpenoids, betulin, lupeol, spherical amorphous nanoparticles, precipitation by water from an organic solvent.

Использование наночастиц обусловлено их особыми свойствами, которые возникают из-за их ограниченных размеров. Частицы размером менее 5 нм проявляют квантовые свойства [1], во многих случаях наблюдается «эффект сита», который в медицине описывается как «пассивное нацеливание» [2]. Включение активной фармацевтической субстанции в наночастицы, с одной стороны, предохраняет ее от нежелательных воздействий со стороны организма, а с другой – защищает организм от воздействия субстанции в местах, где действие препарата нежелательно [3, 4]. Кроме того, заключение субстанции в наночастицы – удобный метод солюбилизации плохо растворимых веществ [5].

Исследуемый в нашей лаборатории бересты экстракт сухой (БЭС) представляет собой сумму природных тритерпеновых соединений, таких как бетулин, лупеол, 3-О-кофеат бетулина, бетулиновая кислота и др. Основным компонентом смеси является бетулин (не менее 65%).

Проведенные ранее исследования [6] показали значительные антигипоксантную, противовоспалительную, иммуномодуляторную, антитуберкулезную, ноотропную активности экстракта. Кроме того, известно, что бетулиновая кислота – продукт окисления бетулина – ингибирует рост и инициирует апоптоз некоторых разновидностей раковых клеток [7], а также оказывает ингибирующее действие на развитие ВИЧ-1 [8].

Крайне плохая растворимость компонентов БЭС в воде (например, растворимость бетулина, как было определено нами ранее, составляет менее 1 мкг/мл) затрудняет его использование в качестве лекарственного препарата, уменьшает его эффективность как БАД. Поэтому создание водорастворимой формы БЭС весьма актуально, так как должно привести к увеличению его биодоступности.

Известно несколько способов солюбилизации подобных гидрофобных субстанций [9–12]:

комплексообразование с амфифильным полимером (чаще всего, полиэтиленгликоль и поливинилпирролидон), заключение вещества в наночастицы (липосомы, эмульсии, мицеллы, полимерные наносферы и др.), использование соединений включения с циклодекстринами и т. п.

Очень важным параметром лекарственных препаратов в форме наночастиц является доля активного вещества в препарате. Она зависит от природы и свойств включаемого вещества и носителя, способа приготовления препарата. Естественно пытаться добиваться максимального процента включения. Известна очень эффективная с этой точки зрения лекарственная форма – наносuspension, представляющая собой нанокристаллы (наноагрегаты) активного вещества, как правило, стабилизированные поверхностно-активными веществами (ПАВ). Поскольку в таком случае лекарственное вещество является одновременно и носителем, доля активного вещества близка 100%.

В нашей лаборатории был разработан способ получения наносuspension БЭС, близкий к описанному в работе [13], который не требует добавления ПАВ. Он состоит в следующем: в 1 объем раствора БЭС в тетрагидрофуране (ТГФ) с концентрацией 5 мг/мл впрыскиваются 25 объемов воды с последующим удалением ТГФ и основной части воды упариванием [14]. С помощью этого способа нам удалось получать нанодисперсии САНЧ с размером частиц 20–200 нм в концентрациях 1.5 мг/мл, что в 1500 раз больше до сих пор возможной. САНЧ показали себя как эффективные носители гидрофобных субстанций [15] и как иммунологические адьюванты [16, 17]. Гипотеза о том, что основную роль в стабилизации САНЧ играет поверхностное расположение кофеата бетулина, нашло подтверждение – фенольные гидроксилы этих молекул проявляют способность восстанавливать ионы серебра, которые оказываются иммобилизованными на поверхности САНЧ [18].

Разработанный способ оказался применим и к неорганическим субстанциям [19]. Но этот способ имеет недостатки: после первой стадии образуется очень разбавленная дисперсия (0.19 мг/мл), что требует значительных затрат времени и энергии для удаления основной части воды.

Целью настоящей работы были исследования, направленные на определение параметров процесса получения, которые существенны для образования нанодисперсии БЭС.

Результаты и их обсуждение

Для достижения означенной цели изучали влияние на качество получаемых дисперсий изменений следующих параметров: замена ТГФ на другие смешивающиеся с водой растворители, соотношения объемов воды и раствора БЭС в ТГФ, температуры, концентрации БЭС в ТГФ.

Варьирование растворителей

На электронных микрофотографиях образцов, полученных по традиционной методике с использованием раствора в ТГФ, кроме САНЧ, частиц другой формы не наблюдалось. На основе микрофотографий получаемых дисперсий была построена гистограмма (рис. 1), из которой видно, что в нанодисперсии присутствуют частицы размером от 20 до 200 нм, в наибольшем же количестве частицы размером от 90 до 110 нм. Эта гистограмма рассматривается нами в качестве эталонной.

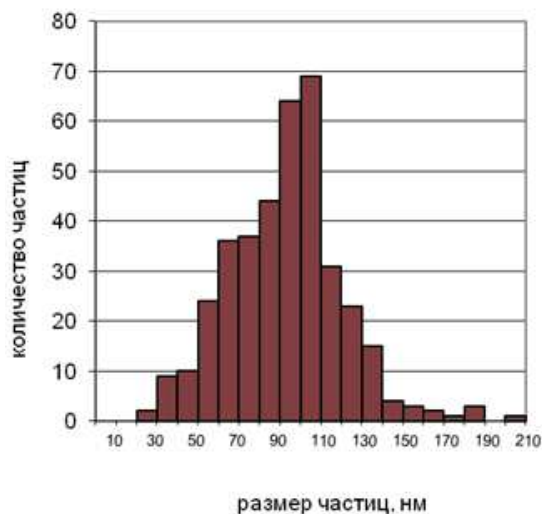
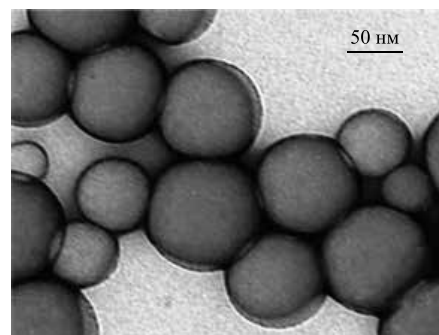


Рис. 1. Гистограмма распределения размеров наночастиц, полученных из БЭС стандартным способом.

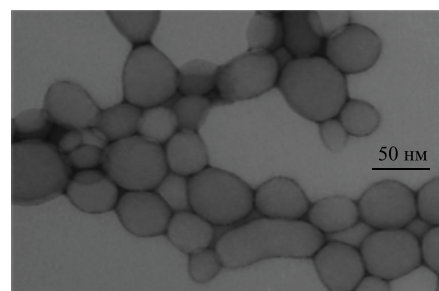
Вполне очевидно, что использование ТГФ для приготовления нанодисперсий не является обязательным. Возможные варианты — смешивающиеся с водой растворители, в которых хорошо растворяется БЭС. Оказалось, что подходящими растворителями помимо ТГФ являются ацетон и диоксан — в отличие от других смешивающихся с водой раствори-

лей: ацетонитрила, ДМФА, ДМСО, изопропилового спирта, этилового спирта, метилового спирта, в которых БЭС растворяется плохо.

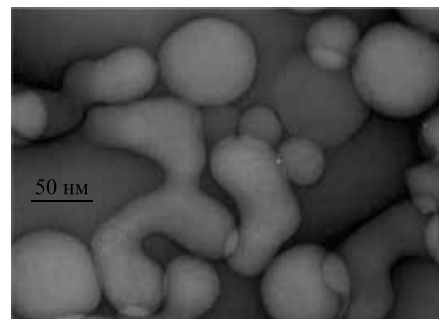
Микрофотографии дисперсий, полученных из растворов БЭС в ацетоне и диоксане (рис. 2Б и 2В), показывают, что наряду со сферическими частицами образуются частицы «менее совершенные»: эллиптические, грушевидные, «тройной бумеранг», или трискелион. Кроме того, в образце с ацетоном изредка наблюдаются нанокристаллы бетулина. Сравнение физико-химических параметров исследуемых растворителей показывает, что для ТГФ некоторые из них имеют экстремальные значения.



А



Б



В

Рис. 2. Электронные микрофотографии дисперсий, полученные: А — из раствора БЭС в ТГФ; Б — из раствора БЭС в ацетоне; В — из раствора БЭС в диоксане.

Низкая температура плавления свидетельствует о том, что силы взаимодействия между молекулами в кристалле слабые. А поскольку величина молекулярной рефракции, определяемая через показатель преломления вещества, служит мерой электронной поляризуемости его молекул, это говорит о том, что

дипольный момент молекулы небольшой и ригидный. Расчеты показывают, что частичный отрицательный заряд на атоме кислорода в молекуле ТГФ больше, чем в молекулах ацетона и диоксана. Это мо-

жет означать, что переход депротонированных молекул кофеата бетулина из органического растворителя в воду в случае ТГФ сопровождается выделением большей энергии.

Свойства исследованных растворителей, которые принимают экстремальные значения для ТГФ

Растворитель	Температура плавления, °С	Показатель преломления	Молекулярная рефракция	Частичный заряд на атоме О, а.е. ¹
ТГФ	-108	1.1404	3.6	-0.42
Ацетон	-94	1.3588	5.3	-0.35
Диоксан	12	1.4224	7.8	-0.41

Варьирование температуры

Были проведены эксперименты по получению САНЧ при температуре, близкой к 0 °С, и при 55–60 °С. При низкой температуре образовывались стабильные дисперсии САНЧ меньшего размера; при температуре в районе 55–60 °С получались нестабильные дисперсии, в основном состоящие из кристаллов бетулина. Судя по всему, при смешении воды и раствора БЭС в органическом растворителе могут параллельно протекать два процесса: термодинамически контролируемая кристаллизация бетулина, наиболее представленного в смеси, и кинетически контролируемое формирование САНЧ. Если исходить из полученных нами данных, при температуре 55–60 °С бетулин кристаллизуется быстрее, чем формируются наносферы, а при температуре, близкой к 0 °С – наоборот.

Нагревание готовой дисперсии

В рамках данного исследования мы также проверили стабильность дисперсий САНЧ в условиях температурной стерилизации: нагревание при 100 °С в течение 1 ч (рис. 3, 4).

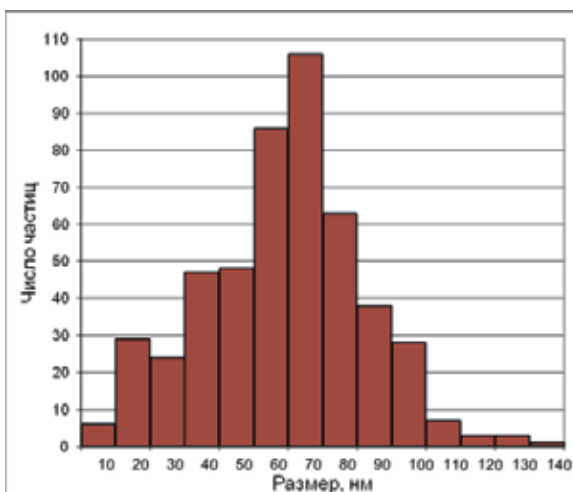


Рис. 3. Гистограмма распределения наносфер, полученных при нагревании САНЧ в течение 1 ч при 100 °С.

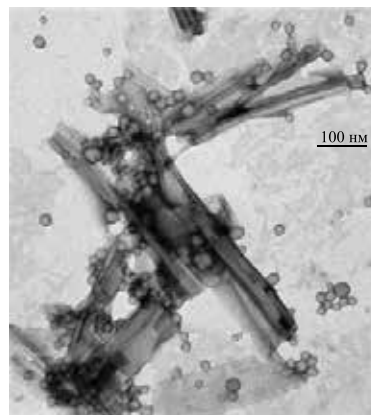


Рис. 4. Электронная микрофотография дисперсии из БЭС после нагревания САНЧ в течение 1 ч при 100 °С.

Как видно на микрофотографии (рис. 4), после нагревания нанодисперсии БЭС выделяется и кристаллизуется вещество – вероятно бетулин, судя по характерным для него плоским структурам. Причем размер сферических частиц уменьшается практически на треть. Возможное объяснение этого явления состоит в следующем: поскольку при нагревании уменьшается вязкость САНЧ и происходят процессы, способствующие образованию термодинамически контролируемых продуктов, то происходит кристаллизация бетулина (вытапливание) в водную среду. Эта гипотеза подтверждается тем, что уменьшается диаметр САНЧ.

Варьирование объема добавляемой воды

Были получены НЧ из БЭС с добавлением меньшего, чем предполагает обычная методика (25 мл), количества воды: 12.5 и 6 мл (рис. 5, 6). Добавление меньшего объема воды должно приводить к замедлению скорости обмена растворителей и образования твердой фазы, то есть к условиям, способствующим образованию термодинамически контролируемого продукта. На самом деле, наряду с САНЧ в этих экспериментах также выделялись кристаллы бетулина (см., например, рис. 6). Причем с уменьшением объема добавляемой воды размеры образующихся САНЧ уменьшаются (рис. 7).

¹по Малликену, расчет методом DFT-B3LYP.

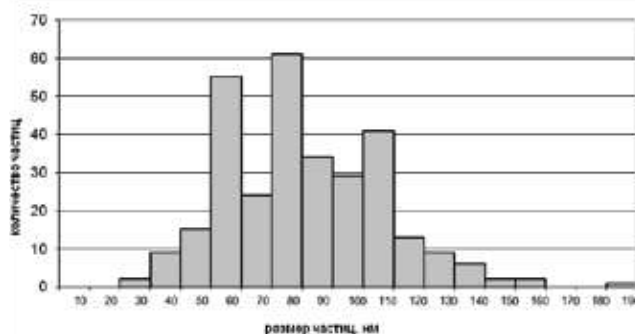


Рис. 5. Гистограмма распределения размеров сферических наночастиц из БЭС, полученных при добавлении в два раза меньшего по сравнению со стандартной методикой количества воды (12.5 мл).

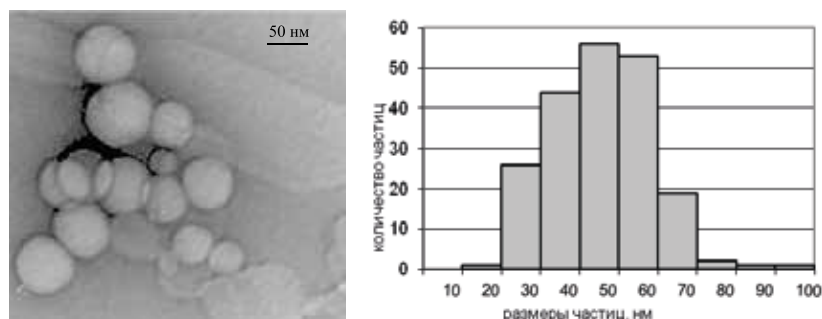


Рис. 6. Электронная микрофотография дисперсии и гистограмма распределения размеров наносфер из БЭС, полученных при добавлении в четыре раза меньшего по сравнению со стандартной методикой количества воды (6 мл).

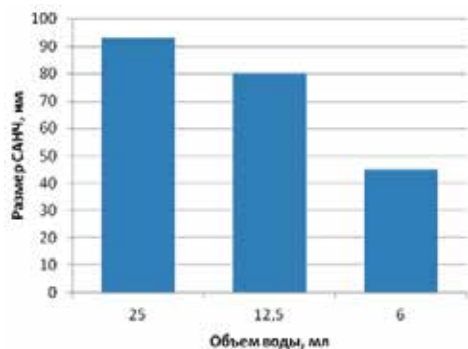


Рис. 7. Зависимость диаметра САНЧ от объема добавляемой воды.

На микрофотографии (рис. 6) видно, что при добавлении 6 мл воды вместо 25 мл из БЭС кристаллизуется бетулин (плоские кристаллы). Также, как и в случае стерилизованного образца, где также выделялся бетулин в виде плоских структур, размеры наносфер значительно меньше обычных (рис. 7).

Нанодисперсии БЭС, полученные по методике обратного прибиавления

Альтернативным способом получения НЧ из БЭС является обратное прибиавление. То есть, в отличие от используемой методики, в соответствии с которой к раствору БЭС в ТГФ приливается вода, данный способ подразумевает впрыскивание раствора БЭС в органическом растворителе в воду. Основными структурами, получаемыми в этом случае, являются кристаллы бетулина. По нашему мнению, при этом протекают та-

кие микропроцессы, как увеличение скорости взаимодиффузии растворителей и, следовательно, скорости осаждения гидрофобных веществ БЭС.

Ранее мы показали, что в САНЧ кофеат бетулина распределен неравномерно – он концентрируется на поверхности НЧ [20]. Учитывая, что именно это вещество стабилизирует НЧ, для образования сферических частиц важно, чтобы кофеат бетулина имел возможность диффундировать на поверхность образующейся сферической НЧ. При добавлении небольшого объема (1 мл) раствора тритерпеноидов в ТГФ к 25-кратному объему воды происходит очень быстрое перераспределение растворителей, и это приводит к тому, что не хватает времени на формирование аморфных наночастиц и происходит кристаллизация бетулина.

Варьирование концентрации БЭС в ТГФ

Для исследования влияния концентрации БЭС в ТГФ на размер НЧ была приготовлена серия дисперсий с разной концентрацией БЭС в ТГФ: 2.5, 5, 7, 9 и 10 мг/мл. Было отмечено, что стабильными получаются дисперсии, полученные из растворов в ТГФ с концентрацией 2.5 и 5 мг/мл, в остальных образцах быстро образуется осадок – кристаллы бетулина.

Нанодисперсии БЭС, полученные при добавлении водного раствора ТГФ

Предполагается, что для образования сферических частиц БЭС оптимальными являются условия, при которых происходит максимально быстрая диф-

фузия растворителя в водный объем [21]. Для проверки данной гипотезы получали НЧ при добавлении не избытка воды, а водного раствора ТГФ. Было проведено два эксперимента: с 20% и 50%-ными растворами ТГФ в воде.

Было выяснено, что в этих условиях не образуются САНЧ, получают кристаллы, которые быстро осаждаются. Таким образом, эти эксперименты подтвердили, что уменьшение скорости диффузии растворителя в водный объем из раствора БЭС приводит к укрупнению частиц.

Экспериментальная часть

Материалы и методы

БЭС предоставлен ООО «Березовый мир». Состав: бетулин 65–71%, лупеол 12–16%, кофеат бетулина 5–15%. Остальные реактивы и растворители квалификации не ниже «хч» приобретены у компании «Химмед» (Москва, Россия).

В работе применялись следующие приборы: испаритель ротационный Laborota 4000 (Heidolph, Германия), магнитная мешалка Ika RN basic (Ika Labortechnik, Германия), ультразвуковая баня Sonorex TK-52 (Bandelin, Германия), спектрофотометр DU® 7 (Beckman, США).

Для электронной микроскопии 5–10 мкл нанодисперсий наносили на свежеионизированные угольно-коллодиевые пленки-подложки, через 3 мин избыток жидкости удаляли фильтровальной бумагой и препараты контрастировали 1% водным раствором уранилацетата. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-100CX ("Jeol", Япония), находящемся в ЦКП "Коллекция UNIQEM" ФИЦ Биотехнологии РАН, при инструментальном увеличении 10 или 20 тыс. На микрофотографиях подсчитывали количество частиц, имеющих размеры в интервалах по 10 нм (например, от 100 до 109 нм) общим числом не менее 200. Гистограммы распределения по размерам строили в пакете программ Excel.

Получение нанодисперсий БЭС. Стандартная методика

В круглодонную колбу с 5 мг БЭС в 1 мл ТГФ (ацетона или диоксана) (5 мг/мл) при интенсивном перемешивании быстро добавляли пипеткой 25 мл дистиллированной воды. Дисперсию перемешивали еще в течение 5 мин. Растворитель удаляли на ротационном испарителе при температуре 35–40 °С до половинного объема. Полученную нанодисперсию обрабатывали 5 мин на ультразвуковой бане и затем концентрировали на ротационном испарителе до концентрации 1–1.5 мг/мл.

Получение нанодисперсий БЭС с меньшим избытком воды

В круглодонную колбу с 5 мг БЭС в 1 мл ТГФ (5 мг/мл) при интенсивном перемешивании быстро до-

бавляли пипеткой дистиллированную воду: 12.5 мл или 6 мл. Далее повторяли стандартную методику, получая дисперсии с концентрацией 1–1.5 мг/мл.

Получение нанодисперсий БЭС при температуре, отличной от 25 °С

Круглодонную колбу с 5 мг БЭС в 1 мл ТГФ (5 мг/мл) помещали на ледяную баню (или в баню с температурой 50–60 °С), при интенсивном перемешивании быстро добавляли пипеткой 25 мл дистиллированной воды, охлажденной до 5 °С (или нагретой до 60 °С). Далее повторяли стандартную методику, получая дисперсии с концентрацией 1–1.5 мг/мл.

Получение нанодисперсий БЭС при обратном прибавлении

В круглодонную колбу с 25 мл дистиллированной воды при интенсивном перемешивании впрыскивали раствор БЭС в ТГФ (5 мг/мл). Дисперсию перемешивали еще в течение 5 мин. Далее повторяли стандартную методику, получая дисперсии с концентрацией 1–1.5 мг/мл.

Получение нанодисперсий из растворов БЭС различной концентрации

В круглодонную колбу с X мг (X = 2.5, 5, 7, 9, 10) БЭС в 1 мл ТГФ (X мг/мл) при интенсивном перемешивании быстро добавляли пипеткой 25 мл дистиллированной воды. Дисперсию перемешивали еще в течение 5 мин. Далее повторяли стандартную методику, получая дисперсии с концентрацией 1–1.5 мг/мл.

Получение нанодисперсий БЭС при добавлении водного раствора ТГФ

В круглодонную колбу с 5 мг БЭС в 1 мл ТГФ (5 мг/мл) при интенсивном перемешивании быстро добавляли пипеткой 25 мл водного раствора ТГФ (20% или 50%). Дисперсию перемешивали еще в течение 5 мин. Далее повторяли стандартную методику, получая дисперсии с концентрацией 1–1.5 мг/мл.

Выводы

1. Быстрое прибавление 25-кратного избытка воды к раствору БЭС в ТГФ (5 мг/мл) при комнатной температуре с последующим упариванием до объема 1–3 мл приводит к получению дисперсии, состоящей из сферических частиц размером 20–200 нм.

2. Большинство изменений условий получения: увеличение температуры, увеличение концентрации БЭС в ТГФ, замена ТГФ на другие растворители (диоксан, ацетон), уменьшение объема воды, изменение порядка прибавления (раствор в ТГФ к воде) – приводит к уменьшению стабильности дисперсии, что является следствием появления в дисперсии помимо сферических частиц нанокристаллов бетулина. Только проведение процесса по-

лучения при температуре, близкой к 0 °С, позволяет получать САНЧ меньшего размера и без кристаллов бетулина.

3. По всей видимости, оптимальными условиями для образования нанодисперсии сферических частиц, представляющими собой твердый раствор компонентов БЭС в аморфном состоянии, являются

условия, при которых происходит максимально быстрая диффузия растворителя в воду.

Благодарности:

Выражаем благодарность за расчеты методом DFT-V3LYP д.х.н., проф. Шамсиеву Р.С., кафедра физической химии имени Я.К. Сыркина Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова РТУ МИПЭА.

Список литературы:

1. Сергеев Г.Б. Размерные эффекты в нанохимии // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). 2002. Т. XLVI. № 5. С. 22–29. URL: <http://www.chem.msu.su/rus/jvho/2002-5/22.pdf>
2. Sakurai Y., Kajimoto K., Hatakeyama H., Harashima H. Advances in an active and passive targeting to tumor and adipose tissues // *Expert Opin. Drug Deliv.* 2015. V. 12(1). P. 41–52. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.955847>
3. Chang C., Meikle T.G., Su Y., Wang X., Dekiwadia C., Drummond C.J., Conn C.E., Yang Y. Encapsulation in egg white protein nanoparticles protects anti-oxidant activity of curcumin // *Food Chem.* 2019. V. 280. P. 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.124>
4. Стволинский С.Л., Антонова Н.А., Куликова О.И., Лопачёв А.В., Абаймов Д.А., Аль-Байдани И., Лопачёва О.М., Фёдорова Т.Н., Каплун А.П., Сорокоумова Г.М. Липоилкарнозин: синтез, изучение физико-химических и антиоксидантных свойств, биологическая активность // *Биомедицинская химия.* 2018. Т. 64 (3). С. 268–275. URL: https://elibrary.ru/title_about.asp?id=25613
5. Ong H.J., Pinal R. Drug solubilization by means of a surface-modified edible biopolymer enabled by hot melt extrusion // *J. Pharm. Sci.* 2018. V. 107(1). P. 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.022>
6. Минеева М.Ф. Антигипоксическое средство: патент RU 2003137066. Приоритет от 24.12.2003.
7. YingMeei Tan, Rong Yu, Pezzuto J.M. Betulinic acid – induced programmed cell death in human melanoma cells involves mitogen-activated protein kinase activation // *Clin. Cancer Res.* 2003. V. 9. P. 2866–2875. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.022>
8. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection // *Med. Res. Rev.* 2004. V. 24(1). P. 90–114. <https://doi.org/10.1002/med.10053>
9. Akkar A., Miller R.H. Solubilization by emulsification. Novel formulation principle of poorly soluble drugs for intravenous administration // *Pharm. Ind.* 2004. V. 66. № 12. P. 1537–1544.
10. Pacheco L.F., Carmona-Ribeiro A.M. Effects of synthetic lipids on solubilization and colloid stability of hydrophobic drugs // *J. Colloid Interface Sci.* 2003. V. 258. № 1. P. 146–154. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(02\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(02)00103-0)
11. Palma S., Manzo R.H., Allemandi D., Fraton L., Lo Nostro P. Solubilization of hydrophobic drugs in octanoyl-6-O-ascorbic acid micellar dispersions // *J. Pharm. Sci.* 2002. V. 91. № 8. P. 1810–1816. <https://doi.org/10.1002/jps.10180>
12. Ismail A.A., Gouda M.W., Motawi M.M. Micellar solubilization of barbiturates. I. Solubilities of certain barbiturates in polysorbates of varying hydrophobic chain length // *J. Pharm. Sci.* 1970. V. 59. № 2. P. 220–224. PMID: 5411344

References:

1. Sergeev G.B. Dimensional effects in nanochemistry. *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal (Zhurnal Rossiyskogo khimicheskogo obshchestva im. D. I. Mendeleeva)* [Russian Chemical Journal (Journal of the D.I. Mendeleev Russian Chemical Society)] 2002; XLVI(5):22-29. (in Russ.). URL: <http://www.chem.msu.su/rus/jvho/2002-5/22.pdf>
2. Sakurai Y., Kajimoto K., Hatakeyama H., Harashima H. Advances in an active and passive targeting to tumor and adipose tissues. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2015; 12(1):41-52. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.955847>
3. Chang C., Meikle T.G., Su Y., Wang X., Dekiwadia C., Drummond C.J., Conn C.E., Yang Y. Encapsulation in egg white protein nanoparticles protects anti-oxidant activity of curcumin. *Food Chem.* 2019; 280:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.124>
4. Stvolinsky S.L., Antonova N.A., Kulikova O.I., Lopachev A.V., Abaimov D.A., Al-Baidani I., Lopacheva O.M., Fedorova T.N., Kaplun A.P., Sorokoumova G.M. Lipoilcarnosine: Synthesis, study of physico-chemical and antioxidant properties, biological activity. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical Chemistry]. 2018. 64(3):268-275. (in Russ.). URL: https://elibrary.ru/title_about.asp?id=25613
5. Ong H.J., Pinal R. Drug solubilization by means of a surface-modified edible biopolymer enabled by hot melt extrusion. *J. Pharm. Sci.* 2018; 107(1):402-411. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.022>
6. Mineeva M.F. Antihypoxic agent: patent RU 2003137066. Priority from 12/24/2003. (in Russ.)
7. YingMeei Tan, Rong Yu, Pezzuto J.M. Betulinic acid – induced programmed cell death in human melanoma cells involves mitogen-activated protein kinase activation. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9:2866-2875. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.10.022>
8. Cichewicz R.H., Kouzi S.A. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Med. Res. Rev.* 2004; 24(1):90-114. <https://doi.org/10.1002/med.10053>
9. Akkar A., Miller R. H. Solubilisation by emulsification. Novel formulation principle of poorly soluble drugs for intravenous administration. *Pharm. Ind.* 2004; 66(12):1537-1544.
10. Pacheco L.F., Carmona-Ribeiro A.M. Effects of synthetic lipids on solubilization and colloid stability of hydrophobic drugs. *J. Colloid Interface Sci.* 2003; 258(1):146-154. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(02\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(02)00103-0)
11. Palma S., Manzo R.H., Allemandi D., Fraton L., Lo Nostro P. Solubilization of hydrophobic drugs in octanoyl-6-O-ascorbic acid micellar dispersions. *J. Pharm. Sci.* 2002; 91(8):1810-1816. <https://doi.org/10.1002/jps.10180>
12. Ismail A.A., Gouda M.W., Motawi M.M. Micellar solubilization of barbiturates. I. Solubilities of certain barbiturates in polysorbates of varying hydrophobic chain length. *J. Pharm. Sci.* 1970; 59(2):220-224. PMID: 5411344

13. Shahgaldian P., Gualbert J., Aissa K., Coleman A.W. A study of the freeze-drying conditions of calixarene based solid lipid nanoparticles // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003. V. 55. № 2. P. 181–184. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00196-0](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00196-0)
14. Чистяков А.Н., Преснова Г.А., Балакшин, В.В., Каплун А.П. Композиция биологически активных веществ и способ получения нанодисперсии её: патент РФ 2322091. Оpubл. 20.04.2008. Бюл. № 11.
15. Каплун А.П., Безруков Д.А., Попенко В.И., Швец В.И. Сферические аморфные наночастицы из тритерпеноидов бересты – новый тип субмикронных средств доставки лекарственных субстанций // *Биофармацевтический журнал.* 2011. Т. 3. № 2. С. 28–40.
16. Гамбарян А.С., Боравлёва Е.Ю., Быкова Н.В., Каплун А.П. Сравнительные испытания субъединичных, адъювантных цельновирионных и живых анти-гриппозных вакцин при гомологичном и гетерологичном заражении // *Медицинская вирусология.* 2014. Т. 28(1). С. 37–58.
17. Красильников И.В., Кулиш Д.М., Бражкин А.Л., Доронин А.Н. Способ получения адъюванта для вакцин: патент RU 2545717. Оpubл. 10.04.2015. Бюл. № 10.
18. Каплун А.П., Помогаев А.И., Лони́на Н.Н., Дубовик Е.Г. Восстановление ионов серебра на поверхности сферических аморфных наночастиц из тритерпеноидов бересты // *Уникальные исследования XXI века.* 2015. № 7(7). URL: <http://elibrary.ru/item.asp?id=23942980>
19. Богуславский Л.И., Буслаева Т.М., Фомичев В.В., Копылова Е.В., Каплун А.П., Попенко В.И. Синтез наночастиц BaSO₄ в системе вода–тетрагидрофуран // *Журн. физ. химии.* 2015. Т. 89. № 2. С. 276–280.
20. Хлебников В.К., Богуславский Л.И., Попенко В.И., Каплун А.П., Швец В.И. Метод исследования распределения по глубине лекарственных и диагностических субстанций в сферических аморфных наночастицах на примере наночастиц, полученных из лупановых тритерпеноидов бересты // *Российские нанотехнологии.* 2010. Т. 5. № 9-10. С. 137–141.
21. Schubert M.A., Muller-Goymann C.C. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles – evaluation of the method and process parameters // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2002. V. 20. P. 300–307. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00130-3](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00130-3)
13. Shahgaldian P., Gualbert J., Aissa K., Coleman A.W. A study of the freeze-drying conditions of calixarene based solid lipid nanoparticles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003; 55(2) P. 181–184. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00196-0](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00196-0)
14. Chistyakov A.N., Presnova G.A., Balakshin V.V., Kaplun A.P. The composition of biologically active substances and a method for its nanodispersion: patent RU 2322091. Publ. 04/04/2008. Bull. No. 11. (in Russ.)
15. Kaplun A.P., Bezrukov D.A., Popenko V.I., Shvets V.I. Spherical amorphous nanoparticles from birch bark triterpenoids - a novel type of submicronic vehicle for drug delivery. *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals.* 2011; 3(2):28–40. (in Russ.)
16. Gambaryan A.S., Boravlyova E.Y., Bikova N.V., Kaplun A.P. Comparative testing of subunit, adjuvanted whole-virion inactivated and live anti-influenza vaccines against homologous and heterosubtypic challenge. *Meditinskaya virusologiya [Medical Virology].* 2014; 28(1):37–58. (in Russ.)
17. Krasilnikov I.V., Kulish D.M., Brazhkin A.L., Doronin A.N. The method of obtaining an adjuvant for vaccines: patent RU 2545717. Publ. 04/10/2015. Bull. No. 10. (in Russ.)
18. Kaplun A.P., Pomogaev A.I., Lonina N.N., Dubovik E.G. Reduction of silver ions on the surface of spherical amorphous nanoparticles from birch bark triterpenoids. *Unikal'nyye issledovaniya XXI veka [Unique studies of the XXI century].* 2015; 7(7): 148–152. (in Russ.). URL: <http://elibrary.ru/item.asp?id=23942980>
19. Boguslavsky L.I., Buslaeva T.M., Fomichev V.V., Kopylova E.V., Kaplun A.P., Popenko V.I. Synthesis of BaSO₄ nanoparticles in the water – tetrahydrofuran system. *Russian Journal of Physical Chemistry.* 2015; 89(2):256–260.
20. Khlebnikov V.K., Boguslavsky L.I., Popenko V.I., Kaplun A.P., Shvets V.I. Method of studying depth distribution of therapeutic and diagnostic substances inside spherical amorphous nanoparticles. *Rossiyskiye nanotekhnologii = Nanotechnologies in Russia.* 2010; 5(9-10):709–714. (in Russ.)
21. Schubert M.A., Muller-Goymann C.C. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles – evaluation of the method and process parameters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2002; 20:300–307. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(02\)00130-3](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(02)00130-3)

Об авторах:

Бастрич Ася Николаевна, магистр техники и технологии, Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86).

Степанов Александр Евгеньевич, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры общей химической технологии Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). <https://orcid.org/0000-0002-6328-3664>

Лонина Наталья Николаевна, кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры химической технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). <https://orcid.org/0000-0002-6541-0129>

Попенко Владимир Иванович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных основ развития злокачественных заболеваний, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 32). <https://orcid.org/0000-0002-2108-0658>

Каплун Александр Петрович, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). <https://orcid.org/0000-0002-5600-8648>

About the authors:

Asya N. Bastrich, Master of Engineering and Technology, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia).

Alexander E. Stepanov, D.Sc. (Chemistry), Professor, Professor of the Chair of General Chemical Technology, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). <https://orcid.org/0000-0002-6328-3664>

Natalya N. Lonina, Ph.D. (Chemistry), Docent, Associate Professor of the N.A. Preobrazhensky Chair of Chemical Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). <https://orcid.org/0000-0002-6541-0129>

Vladimir I. Popenko, D.Sc. (Biology), Senior Scientist of the Laboratory of Cellular Basics of Malignant Disease Development, V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences (32, Vavilova st., Moscow, 119991, Russia). <https://orcid.org/0000-0002-2108-0658>

Alexander P. Kaplun, D.Sc. (Chemistry), Professor, Professor of the Chair of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). <https://orcid.org/0000-0002-5600-8648>

Для цитирования: Бастрич А.Н., Степанов А.Е., Лони́на Н.Н., Попенко В.И., Каплун А.П. Сферические аморфные наночастицы из тритерпеноидов бересты: изучение условий образования // Тонкие химические технологии. 2019. Т. 14. № 3. С. 33–41. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-33-41

For citation: Bastrich A.N., Stepanov A.E., Lonina N.N., Popenko V.I., Kaplun A.P. Spherical amorphous nanoparticles from birch bark triterpenoids: Study of the conditions for the formation. *Tonkie Khim. Tekhnol. = Fine Chemical Technologies*. 2019; 14(3):33-41. (in Russ.). DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-33-41