

НИОСОМЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ МИЦЕЛЛООБРАЗУЮЩИХ ПАВ И ОСНОВАНИЯ ХЛОРГЕКСИДИНА

© 2025 г. Н. М. Задымова*, С. А. Артюшина

*Химический факультет Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, стр. 3, Москва, 119991 Россия*

**e-mail: nzadymova@gmail.com*

Аннотация. Предложен и реализован простой конденсационный способ получения ниосомальной формы практически нерастворимого в воде биоцида (основание хлоргексидина, ХГ), являющейся эффективным переносчиком ХГ в водной среде. Подход основан на солюбилизации ХГ в мицеллярных водных растворах полиоксиэтилированных ПАВ (Твин 80 и Твин 20) без использования органических растворителей, высокоэнергетического диспергирования и роторного испарителя, необходимых атрибутов в обычной практике получения ниосом, и обеспечивает высокую степень инкапсуляции биоцида ($96 \pm 2\%$). Получены водные дисперсии двухкомпонентных ниосом (Твин 80 + ХГ и Твин 20 + ХГ), стабильные в течение длительного времени. Определены размеры ниосом, их структура, солюбилизационная емкость и транспортные свойства относительно ХГ. Проанализировано влияние длины углеводородной цепи ПАВ на размеры и стабильность ниосом с инкорпорированным ХГ. Предложен механизм трансформации мицелл полиоксиэтилированных ПАВ с солюбилизированным ХГ в ниосомы при мольном соотношении ХГ/ПАВ, равном 1/2.

Ключевые слова: ниосомы, мицеллы Твин 80 и Твин 20, солюбилизация, основание хлоргексидина, массоперенос биоцида в водной среде

Финансирование работы. Данная работа выполнена по госбюджетной тематике НИР (номер ЦИТИС: 121031300084-1) и финансировалась за счет средств бюджета университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Соблюдение этических стандартов. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Поступила в редакцию 05.07.2025
После доработки 03.08.2025
Принята к публикации 13.08.2025

NIOSOMES BASED ON POLYOXYETHYLATED MICELLE-FORMING SURFACTANTS AND CHLORHEXIDINE BASE

N. M. Zadymova*, S. A. Artyushina

Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

**e-mail: nzadymova@gmail.com*

Abstract. A simple condensation method for obtaining a niosomal form of a practically water-insoluble biocide (chlorhexidine base, CHX), which is an effective CHX carrier in an aqueous medium, is proposed and implemented. The approach is based on the solubilization of CHX in micellar aqueous solutions of polyoxyethylated surfactants (Tween 80 and Tween 20) without using organic solvents, high-energy dispersion and a rotary evaporator, which are necessary attributes in the usual practice of obtaining niosomes, and provides a high degree of biocide encapsulation ($96 \pm 2\%$). Aqueous dispersions of two-component niosomes (Tween 80 + CHX and Tween 20 + CHX) stable for a long time were obtained. The sizes of niosomes, their structure, solubilization capacity and transport properties relative to CHX were determined. The effect of the hydrocarbon chain length of the surfactant on the sizes and stability of niosomes with incorporated CHX was analyzed. A mechanism for the transformation of micelles of polyoxyethylated surfactants with solubilized CHX into niosomes at a CHX/Surfactant molar ratio of 1/2 is proposed.

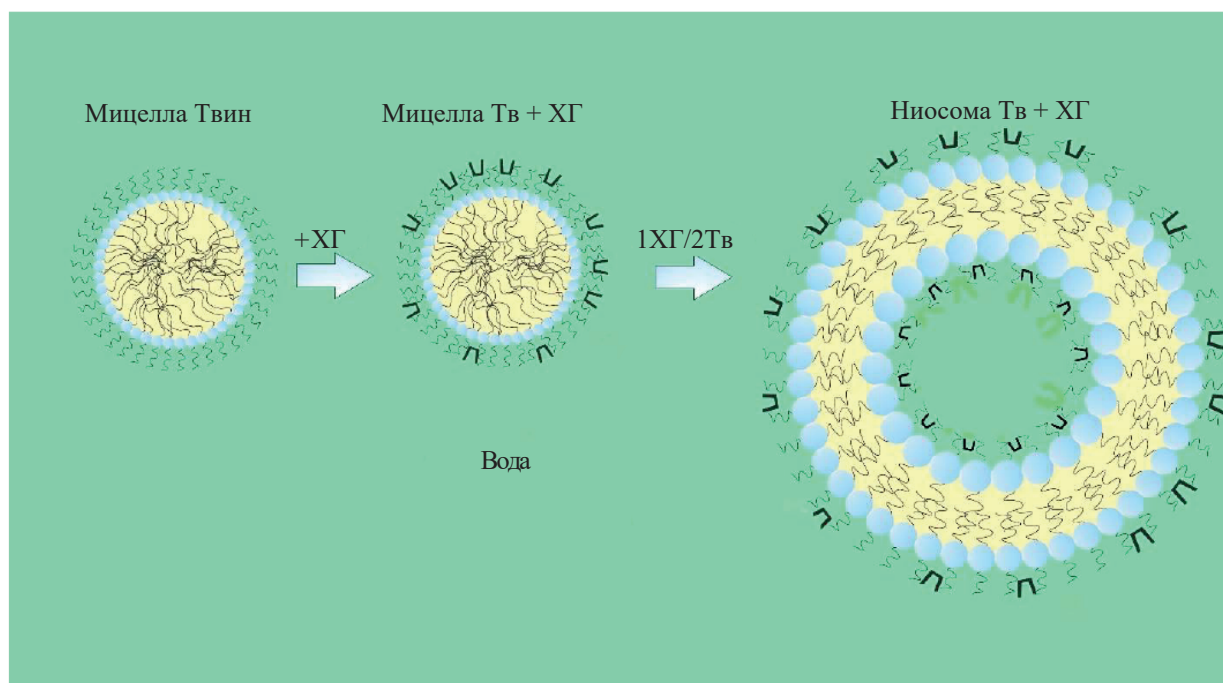
Keywords: niosomes, micelles of Tween 80 and Tween 20, solubilization, chlorhexidine base, mass transfer of biocide in an aqueous medium

Funding. This work was carried out on the state budget research topic (CITIS number: 121031300084-1) and was funded by the university budget. No additional grants have been received to conduct or direct this particular study.

Ethics declarations. There are no human or animal studies in this work.

Conflict of interests. The authors of this paper declare that they have no conflict of interest.

Received July 5, 2025
Revised August 3, 2025
Accepted August 13, 2025



ВВЕДЕНИЕ

Постоянное появление новых патогенных микроорганизмов, зачастую резистентных к лекарственным веществам (ЛВ), является острой проблемой современного мира. В этой связи создание новых эффективных форм дезинфектантов и антисептиков становится первоочередной задачей, актуальность и научная значимость которой не вызывают сомнений. Наиболее известный из существующих антисептических и дезинфицирующих агентов — хлоргексидин, относящийся к классу бигуанидинов, может находиться в различных формах. В настоящее время на практике используются в основном двойные соли хлоргексидина, их растворимость сильно варьируется в зависимости от типа аниона. Так, при температуре 20°C растворимость для дигидрохлорида, диацетата и биглюконата хлоргексидина соответственно составляет 0.06, 1.80 и >70 масс. % [1, 2]. Соли хлоргексидина в зависимости от концентрации могут как ингибировать рост патогенов, проявляя бактериостатический эффект (при $C < 0.01$ масс. %), так и вызывать их гибель (бактерицидное действие, при $C \sim 0.5$ масс. %). Однако в щелочной области pH, а также в присутствии 2-валентных неорганических анионов и анионных ПАВ эти соли утрачивают эффективность действия вследствие перехода в нерастворимые формы. Кроме того, при хранении водных растворов солей хлоргексидина, особенно при повышении температуры, может образовываться *p*-хлоранилин, который обладает канцерогенным действием [3]. Наконец, ионизированная форма солей хлоргексидина затрудняет их проникновение через биомембраны патогенов, тем самым сужая спектр антимикробной активности.

Основание хлоргексидина (ХГ) лишено недостатков, свойственных его солям. Кроме того, неионизированная липофильная молекула ХГ способна более легко проникать через биомембраны, что может расширить спектр бактерицидного действия и даже обеспечить вирулицидную (противовирусную) активность. Камнем преткновения для практического применения основания хлоргексидина является его низкая растворимость в воде ($S_{ХГ} = 1.81 \times 10^{-4}$ М [4]). В литературных источниках крайне скудна информация о методах повышения растворимости основания хлоргексидина в воде. Особого внимания, на наш взгляд, заслуживает патентная разработка [5], описывающая способы получения и свойства лиотропного жидкого кристалла хлоргексидина основания, образующегося в водной жидкокристаллической системе неионогенного ПАВ или смеси неионогенного и катионного ПАВ в присутствии стабилизатора и регулятора кислотности. Полученные композиции обладают бактерицидной активностью против госпитальных штаммов, в том числе патогенных, биопленок, грибов (*Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*), возбудителей анаэробных инфекций, вирусов, в том числе Коксаки, полиомиелита, энтеральных и парентеральных гепатитов, ротавирусов, норовирусов, ВИЧ, аденовирусов, коронавирусов, герпеса. Подтверждена более высокая стабильность (при сохранении повышенной бактерицидной активности) жидкокристаллической формы хлоргексидина основания по сравнению с биглюконатом хлоргексидина. Сделан вывод о высокой эффективности полученных дезинфицирующих и антисептических композиций, в которых действующим веществом является лиотропный кристалл хлоргексидина основания, и возможности

их применения в госпитальной практике (обработка рук хирургов, операционных медицинских сестер, другого медицинского персонала, обработка кожи пациентов при инъекциях, заборе крови, перед введением катетеров и пункцией суставов, для обеззараживания перчаток из различных материалов).

Можно предположить, что существующие коллоидно-химические способы повышения биодоступности липофильных ЛВ, основанные на их инкорпорировании в различные наноразмерные контейнеры (мицеллы ПАВ, капли нано- и микроэмульсий, везикулярные частицы и т.п.), способные транспортировать ЛВ в водной среде, могут быть эффективны и в случае ХГ.

В последнее время в качестве носителей ЛВ активно изучаются везикулярные частицы на основе неионогенных ПАВ, называемые ниосомами [6–17]. Структура ниосом включает центральный пул водного раствора, окруженный концентрическими бислоями ПАВ. Ниосомы классифицируют в зависимости от размеров, количества бислоев и строения [18]. Наибольший практический интерес представляют частицы диаметром от 20 до 1000 нм, содержащие от 1 до 4 бислоев, то есть малые и большие моноламеллярные, а также малые олиголамеллярные ниосомы.

Способность ПАВ формировать ниосомы зависит от их гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ), критического параметра упаковки (КПУ) и температуры фазового перехода гель–жидкость в бислоях [18–20]. Значения ГЛБ неионогенных ПАВ, используемых при получении ниосом, варьируются в широких пределах от 1.4 до 16.9. Этот диапазон включает маслорастворимые липофильные ($\text{ГЛБ} < 7$), легко диспергирующиеся в воде ($7 \leq \text{ГЛБ} \leq 12$) и полиоксиэтилированные мицеллообразующие в водной среде ($\text{ГЛБ} \geq 13$) ПАВ. Как известно, КПУ определяется отношением объема гидрофобной части молекулы ПАВ к произведению эффективной площади полярной части молекулы и длины ее гидрофобной части [21]. Для формирования везикулярных бислоевых структур (ниосом, липосом) молекулы амфифилов должны иметь форму усеченного конуса, а КПУ должен находиться в диапазоне от 0.5 до 1 [22].

Вторым компонентом ниосом часто является холестерин ($\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$) – природный полициклический липофильный спирт, содержащийся в клеточных мембранах практически всех живых организмов. По сути, смесь основного ПАВ и холестерина – это бинарная смесь двух неионогенных ПАВ. Добавка холестерина при получении ниосом позволяет регулировать ГЛБ смеси. Его взаимодействие с молекулами основного ПАВ (как правило, за счет водородных связей между полярными группами) обеспечивает необходимое значение КПУ [18] и повышение температуры фазового перехода гель–жидкость в бислоях, что способствует увеличению стабильности ниосом [20, 23, 24]. Целесообразность добавления холестерина при получении ниосом и его количество зависят от ГЛБ основного ПАВ [19, 20]:

- при $\text{ГЛБ} < 6$ формирование ниосом возможно без холестерина;
- при $\text{ГЛБ} > 6$ ниосомы формируются только в присутствии холестерина;
- чем выше ГЛБ ПАВ, тем больше следует добавлять холестерина. Для мицеллообразующих ПАВ содержание холестерина в бинарной смеси должно превышать 30 мол. %.

Важно не только правильно выбрать компоненты и их соотношение, но необходимо создать условия, при которых будет реализована возможность формирования концентрических бислоев, что определяется способом получения ниосом. Однако в настоящее время методы получения ниосом являются многостадийными, требующими использования легколетучих растворителей и специфического оборудования (ротационные испарители, диспергаторы различного типа, мембранные экструдеры, микрофлюидизаторы) [18, 25, 26]. В этой связи разработка метода получения ниосом без использования органических растворителей и дополнительного оборудования является целесообразной. Кроме того, было бы желательно заменить холестерин, без которого невозможно формирование ниосом гидрофильных ПАВ, на добавку, обладающую функциональными свойствами (бактерицидными или терапевтическими) и способствующую формированию везикулярных структур за счет взаимодействия с ПАВ, в частности, за счет Н-связей.

Ранее нами [4, 27] были получены прямые наноэмульсии, в которых полиоксиэтилированное немилцеллообразующее ПАВ (Твин 85 или Бридж Л4) является дисперсной фазой, и стабилизатором. Эти наноэмульсии эффективно солюбилизируют основание хлоргексидина, сохраняют неизменное распределение частиц по размерам в течение длительного времени, обеспечивают эффективный массоперенос ХГ в водной среде в течение длительного времени и проявляют антимикробную активность по отношению к бактерии *Staphylococcus aureus*, резистентной к некоторым антибиотикам, в частности, к метициллину [28, 29]. Также показано [4, 27], что солюбилизированный ХГ локализован на поверхности капель наноэмульсии вследствие образования водородных связей $\text{N} \cdots \text{H} \cdots \text{O}$ между молекулами ХГ и оксиэтильными группами молекул ПАВ.

Поскольку ХГ способен формировать Н-связи с оксиэтильными группами ПАВ и обладает бактерицидными свойствами, можно предположить, что он подходит в качестве функциональной добавки при получении на основе полиоксиэтилированных мицеллообразующих ПАВ ниосом – эффективных переносчиков биоцида в водной среде. При условии, что самопроизвольно возникающие мицеллы ПАВ будут служить премиксами ниосом, можно рассчитывать, что синтез не потребует использования дополнительного оборудования и органических растворителей. В задачи данной работы входила экспериментальная проверка этой гипотезы.

Объекты

В работе использовали мицеллообразующие ПАВ Твин 80 (Тв80, полиоксиэтилированный (20) моноолеа сорбитана) и Твин 20 (Тв20, полиоксиэтилированный (20) монолаурат сорбитана), которые одобрены для применения в фармацевтике и пищевой индустрии, поскольку являются биосовместимыми, безопасными, биоразлагаемыми и коммерчески доступными. Препараты фирмы «Sigma» (марки «ч») использовали без дополнительной очистки, их структурные формулы

Использовали органические растворители (гептан, этанол и *n*-пропанол) марки “х.ч.” (Sigma-Aldrich, США), полиэтиленгликоль с молекулярной массой 400 (ПЭГ400) марки “для синтеза” (Merck, Германия). Вышеперечисленные реактивы применяли без дополнительной очистки.

Анализ распределения частиц по размерам в водных дисперсиях ПАВ проводили методом динамического рассеяния света (ДРС) на высокоскоростном анализаторе Zetatrac™ NPA152 (Microtrac Inc., Nikkiso), использующем запатентованные алгоритмы обработки спектра мощности доплеровских сдвигов при броуновском движении частиц. Диапазон измерения размеров частиц составляет от 0.8 нм до 6.5 мкм. В качестве источника когерентного монохроматического излучения используется лазерный диод с длиной волны 780 нм. Управление

Table 1. Properties of Tween 80 and Tween 20: molecular weight (M_w), density (ρ), hydrophilic-lipophilic balance (HLB), critical concentration of micelle formation

ПАВ	M_w , Да	ГЛБ	ρ , кг/м ³ $22 \pm 2^\circ\text{C}$	ККМ, М $22 \pm 2^\circ\text{C}$
Твин 80	1310	15 [30]	1.082×10^3	3.2×10^{-5} [31]
Твин 20	1227.5	16.7 [30]	1.095×10^3	6.0×10^{-5} [30]

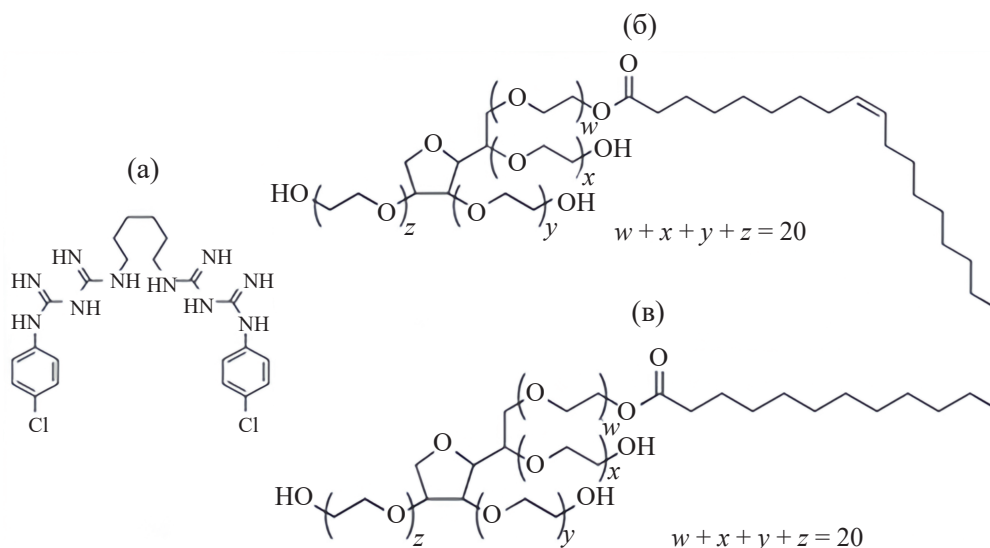


Рис. 1. Структурные формулы основания хлоргексидина (а), Твин 80 (б) и Твин 20 (в).
Fig. 1. Structural formulas of chlorhexidine base (a), Tween 80 (b) and Tween 20 (c).

анализатором и обработка результатов производятся с помощью программного обеспечения Microtrac FLEX. Измерения проводили без предварительного разбавления образцов. В качестве образца сравнения использовали воду. Опыты повторяли не менее трех раз. Получали дифференциальные кривые распределения по размерам $W(d_i)$, характеризующие объемную долю (или об. %) частиц каждого диаметра, определяли средний диаметр частиц и индекс полидисперсности (ИПД).

Растворимость (солюбилизацию) основания хлоргексидина в водных мицеллярных растворах ПАВ изучали с помощью УФ-спектроскопии. Растворы ПАВ предварительно насыщали ХГ. Для этого вносились избыточные навески ХГ, образцы хранились в защищенном от света месте при осторожном периодическом перемешивании, через определенные промежутки времени отбирали пробы раствора над осадком ХГ, фильтровали (0.8 мкм, «Millipore»), при необходимости разбавляли *n*-пропиловым спиртом, который хорошо растворяет ХГ. При отборе проб использовали одноразовые медицинские шприцы.

Для растворов ХГ в *n*-пропиловом спирте длина волны (λ), соответствующая максимуму поглощения, равна 261 нм, а молярный коэффициент экстинкции $E_{261} = 35357 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ [4]. Растворимость $S_{\text{ХГ}}$ рассчитывали по формуле:

$$S_{\text{ХГ}} = \frac{A_{261}}{E_{261}} P, \quad (1)$$

где A_{261} — оптическая плотность, соответствующая максимуму поглощения ХГ в *n*-пропиловом спирте; P — разбавление пробы.

Измерения проводили вплоть до установления равновесных значений $S_{\text{ХГ}}$. Спектры $A(\lambda)$ в диапазоне $\lambda = 200\text{--}800$ нм регистрировали с помощью однолучевого спектрофотометра Agilent 8453 (США). Спектры фиксировали относительно раствора данной концентрации ПАВ (но без ХГ) при одинаковом разбавлении *n*-пропиловым спиртом. Использовали кварцевые кюветы толщиной 1 см. Точность определения оптической плотности составляла $\pm 1 \times 10^{-4}$.

Кинетика массопереноса ХГ наночастицами в водной среде исследована с помощью диффузионной ячейки Франца, состоящей из донорной и акцепторной частей с расположенным между ними отверстием, на которое помещают мембрану. Размер пор мембраны должен заметно превышать размер наночастиц, чтобы скорость массопереноса не лимитировалась свойствами мембраны. В работе использована мембрана MF-Millipore из биологически инертной смеси эфиров целлюлозы (диаметр пор — 0.8 мкм, толщина — 150 мкм и пористость — 75%). Известные объемы образца и приемной среды помещали соответственно в донорную и акцепторную части ячейки Франца. Водный раствор ПЭГ400 (12.5 масс. %) был выбран в качестве приемной среды, поскольку растворяет ХГ в 33 раза больше, чем вода [4]. Пробы приемной среды отбирали через определенные промежутки времени, разбавляли бинарным растворителем вода/этанол

(60/40, масс.), для которого по нашим данным, $\lambda_{\text{max}} = 259$ нм, а $E_{259} = 34063 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$, и переносили в спектрофотометрическую кювету для оценки молярной концентрации ХГ. После отбора пробы в акцепторную часть ячейки Франца добавляли приемную среду в том же объеме. Отобранное количество ХГ, содержащееся в пробе, учитывали при расчетах. В качестве образца сравнения при спектрофотометрических измерениях использовали приемную среду, разбавленную бинарным растворителем в такое же число раз, что и проба образца.

Количество ХГ в единице объема приемной среды ($Q_{\text{ХГ}}$, мкг/см³), перенесенное наночастицами через единицу площади мембраны в акцепторный отсек ячейки за время t , оценивали из соотношения:

$$Q_{\text{ХГ}} = C_{\text{ХГ}} \times M_{\text{ХГ}} \times 1000 K_S, \quad (2)$$

где $C_{\text{ХГ}}$ — молярная концентрация ХГ в акцепторной ячейке в момент времени t , которую определяли спектрофотометрически по уравнению (1); $M_{\text{ХГ}}$ — молекулярная масса ХГ (г/моль); K_S — безразмерный коэффициент, нормирующий результаты на единицу площади мембраны (см²) и обратно пропорциональный площади отверстия ячейки Франца ($K_S = 1 \text{ см}^2 / 0.71 \text{ см}^2 = 1.41$).

Для каждого образца опыты проводили 3–5 раз, получали кинетические зависимости $Q_{\text{ХГ}}(t)$. С учетом объема приемной среды в акцепторной части ячейки ($V = 7.5 \text{ см}^3$) рассчитывали общее количество биоцида, перенесенное за время t через единицу площади мембраны (J мкг/см²).

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) использовалась для изучения структуры и размеров ниосом. Применяли просвечивающий электронный микроскоп Leo 912 AB Omega. При подготовке образца для исследования его каплю наносили на медную сеточку диаметром 3.05 мм, покрытую тонкой полимерной пленкой, подвергали сушке на воздухе в течение нескольких минут. Далее контрастировали 2% водным раствором фосфорновольфрамовой кислоты $\text{H}_3[\text{P}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ и высушивали в течение 3–5 мин. Толщина образца на просвет не превышала 0.5 мкм. Изображения частиц были получены с разрешением до 100 нм. При помощи встроенного программного обеспечения измеряли параметры наночастиц (размеры, толщина бислоев).

Оптическую микроскопию (ОМ) применяли для исследования морфологии крупных везикул. Микроскоп Axioskop 40 («Carl Zeiss») снабжен цифровым фотоаппаратом Canon Power Shot A620. Позволяет анализировать образцы в неполяризованном и поляризованном свете. Масштабирование полученных изображений осуществлялось с помощью программы Adobe Photoshop CS. Использовали предметные и покровные стекла.

Поверхностное натяжение растворов ПАВ измеряли методом «висящая капля» с помощью оптической системы контурного анализа OCA 15EC (Data Physics Instruments GmbH) с программным обеспечением SCA20. В кварцевую кювету толщиной 1 см и объемом

3 мл заранее помещали 1 мл испытуемой жидкости и закрывали сверху пленкой парафила. После установления влажности, соответствующей насыщенному пару, начинали измерения. Каплю объемом 5 мкл формировали на плоском торцевом кончике металлической иглы. Значения поверхностного натяжения (σ) автоматически фиксировали каждые 20 секунд в течение 1.5 ч, что позволяло получать равновесные значения. Точность измерений σ составляла ± 0.05 мН/м.

Все исследования были выполнены при комнатной температуре ($22 \pm 2^\circ\text{C}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для обоих ПАВ (Твин 80 и Твин 20) была исследована растворимость (солюбилизация) ХГ. Серию водных мицеллярных растворов данного ПАВ различных концентраций (5, 7, 8, 9, 11 и 13 мМ) насыщали основанием хлоргексидина. Периодически отбирали пробы, фильтровали их через фильтры Millipore с размером пор 0.8 мкм и исследовали методами УФ-спектроскопии и динамического рассеяния света. Для всех исследованных дисперсий с солюбилизированным ХГ значение pH в среднем составляло 8.5 ± 0.3 .

При определении солюбилизации ХГ пробы разбавляли *n*-пропиловым спиртом. На Рис. 2а, 2б в качестве примера приведены спектры поглощения для разбавленных *n*-пропиловым спиртом проб растворов ПАВ + ХГ через 19 суток. Во всех случаях максимум на спектрах наблюдался при 261 нм, что соответствует поглощению ХГ в *n*-пропиловом спирте. Расчеты значений $S_{\text{ХГ}}$ проводили по Ур. (1) с учетом разбавления. Для мицеллярных растворов обоих ПАВ равновесные значения солюбилизации ХГ достигаются примерно в течение 19 суток. Для обоих ПАВ соответствующие равновесию изотермы солюбилизации $S_{\text{ХГ}}(C_{\text{ПАВ}})$ даны на Рис. 3,

из которого видно, что функции являются линейными, это позволяет из тангенса угла их наклона к оси абсцисс рассчитать солюбилизационную емкость (СЕ) агрегатов ПАВ относительного данного солюбилизирующего [31–33]. Из линейных уравнений, описывающих изотермы солюбилизации (Рис. 3), следует, что значения солюбилизационной емкости агрегатов ПАВ относительно ХГ практически совпадают в обоих случаях: $\text{СЕ} = 0.50 \pm 0.01$ моль ХГ/моль ПАВ. При этом солюбилизация ХГ заметно возрастает с ростом $C_{\text{ПАВ}}$, поскольку возрастает количество агрегатов ПАВ.

Результаты ДРС для исследованных мицеллярных растворов обоих ПАВ в отсутствие ХГ подтвердили не зависящее от концентрации ПАВ и неизменное во времени узкое мономодальное распределение мицелл по размерам, характерное для самоорганизованных термодинамически устойчивых дисперсных систем. Средний диаметр мицелл Твин 20 составляет 5.7 ± 0.1 нм, а для Твин 80, молекула которого имеет более длинную углеводородную часть, средний диаметр мицелл равен 8.3 ± 0.1 нм (Рис. 4).

Для систем ПАВ + ХГ наблюдалось укрупнение частиц с течением времени, что подтверждают результаты ДРС. При этом для Твин 80 и Твин 20, молекулы которых имеют одинаковое строение полярной части, но разные углеводородные радикалы ($-\text{C}_{17}\text{H}_{33}$ и $-\text{C}_{11}\text{H}_{23}$, см. Рис. 1), наблюдается заметное отличие. Поэтому сначала рассмотрим данные, полученные для дисперсных систем на основе Твин 80. Так, на Рис. 5 в качестве примера приведены дифференциальные кривые распределения частиц по размерам для 5 мМ раствора Твин 80 в отсутствие ХГ и в его присутствии при различных значениях времени. Средний диаметр частиц Твин 80 + ХГ в течение 19 суток увеличивался с 8.3 до ~ 80 нм и далее практически не изменялся

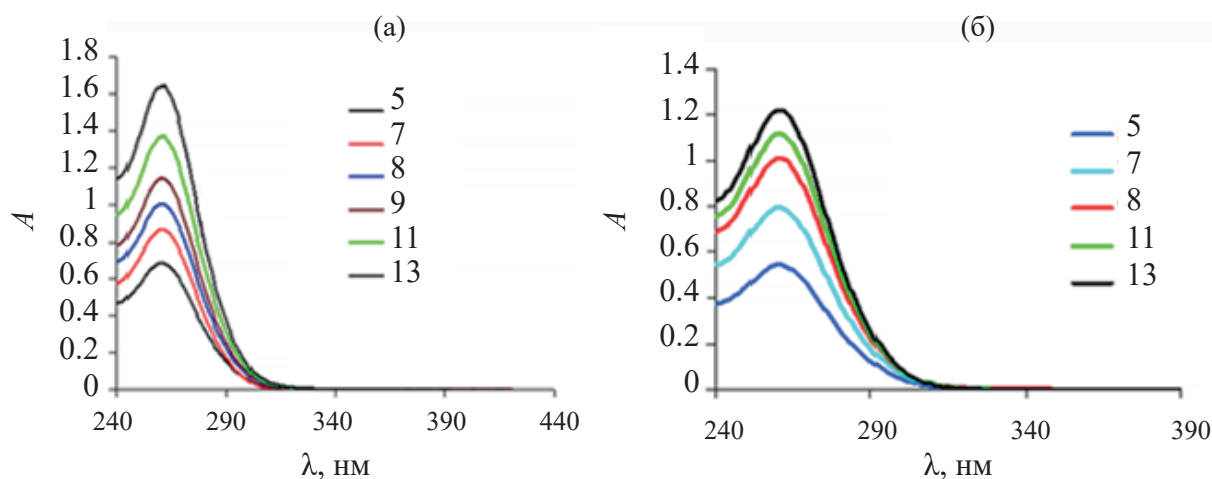


Рис. 2. Спектры поглощения для водных растворов Твин 80 (а) и Твин 20 (б), насыщаемых ХГ в течение 19 суток. Значения концентрации ПАВ в мМ приведены в легенде. Разбавление для Твин 80 составило 155 раз, а для Твин 20—201 раз.

Fig. 2. Absorption spectra for aqueous solutions of Tween 80 (a) and Tween 20 (b) saturated with CHX for 19 days. The values of the surfactant concentration in mM are given in the legend. The dilution for Tween 80 was 155 times, and for Tween 20—201 times.

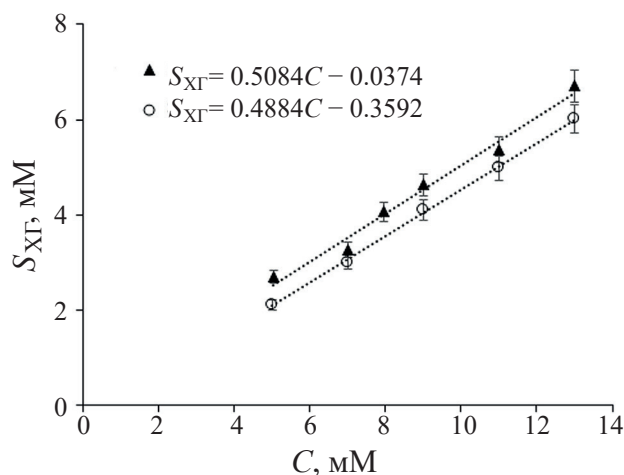


Рис. 3. Равновесные изотермы солюбилизации ХГ в мицеллярных растворах Твин 80 (треугольники черного цвета) и Твин 20 (кружочки без заливки) при 22°C.

Fig. 3. Equilibrium isotherms of CHX solubilization in micellar solutions of Tween 80 (black triangles) and Tween 20 (circles without filling) at 22°C.

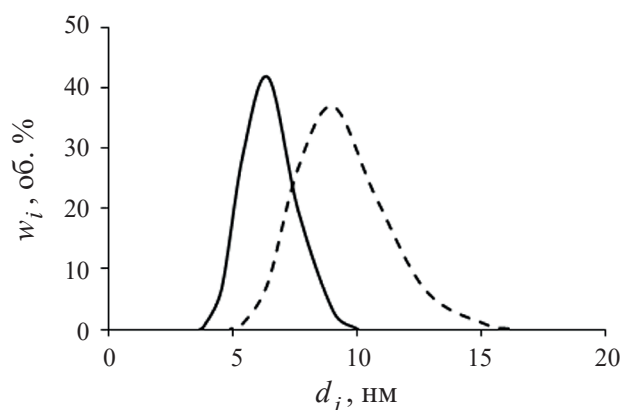


Рис. 4. Дифференциальные кривые распределения мицелл по размерам для 5 мМ водных растворов Твин 20 (сплошная линия) и Твин 80 (пунктир).

Fig. 4. Differential curves of micelle size distribution for 5 mM aqueous solutions of Tween 20 (solid line) and Tween 80 (dotted line).

в течение месяца, при этом индекс полидисперсности в среднем составил 0.09 ± 0.01 . Аналогичные результаты были получены для всех исследованных концентраций Твин 80.

Для оценки стабильности в течение длительного времени водные дисперсии Твин 80 + ХГ хранили без доступа света при комнатной температуре ($22.7 \pm 1^\circ\text{C}$). Периодически контролировали значение СЕ и распределение частиц по размерам. Солюбилизационная емкость полученных систем относительно ХГ оставалась практически неизменной на протяжении всего времени наблюдений, так через 8 месяцев она составила 0.52 ± 0.02 моль ХГ/моль Тв80. По данным ДРС через 8 месяцев распределение частиц по размерам осталось

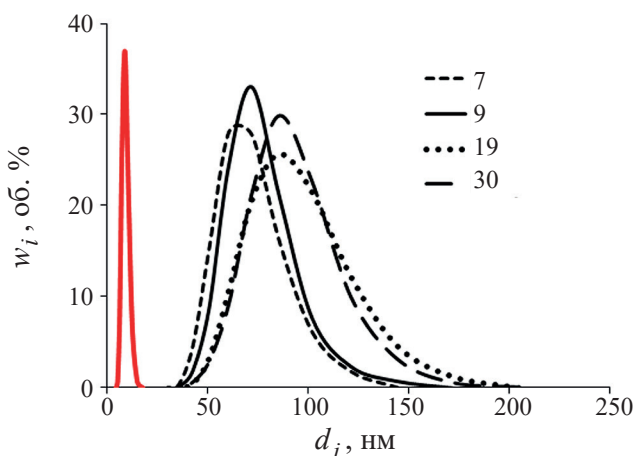


Рис. 5. Дифференциальные кривые распределения частиц по размерам для 5 мМ мицеллярного раствора Твин 80 без добавок ХГ (сплошная линия красного цвета) и в его присутствии при различных значениях времени (значения t в сутках приведены в легенде).

Fig. 5. Differential curves of particle size distribution for 5 mM micellar solution of Tween 80 without CHX additives (solid line in red) and in its presence at various temperatures time values (t values in days are shown in the legend).

мономодальным (Рис. 6), однако наблюдалось некоторое укрупнение частиц. При $C_{\text{Тв80}} = 5$ мМ для дисперсий Твин 80 + ХГ средний диаметр частиц составил ~ 120 нм, в интервале концентраций Твин 80 от 7 до 11 мМ $d_{\text{ср}} \sim 145$ нм, а при 13 мМ Твин 80 $d_{\text{ср}} \sim 177$ нм (Рис. 6). Это, по-видимому, свидетельствует о протекании процессов коагуляции и коалесценции, интенсивность которых возрастает с увеличением концентрации частиц (чем больше $C_{\text{Тв80}}$, тем больше число мицелл, которые послужили зародышами частиц).

На основе приведенных выше данных можно заключить, что полученные водные дисперсии на основе Твин 80 и основания хлоргексидина сохраняют стабильность в течение длительного времени и содержат наноразмерные частицы, характеризующиеся постоянным соотношением компонентов, когда на одну молекулу ХГ приходится примерно 2 молекулы Твин 80.

Для изучения морфологии наноразмерных частиц водную дисперсию Твин 80 + ХГ (при $C_{\text{Тв80}} = 5$ мМ) исследовали методом ПЭМ. На полученных снимках обнаружены сферические ниосомы с диаметром от 90 до 200 нм и толщиной концентрических слоев 18–22 нм (Рис. 7). Если толщину одного бислоя аппроксимировать диаметром мицелл данного ПАВ, то можно заключить, что толщина концентрической оболочки ниосом примерно соответствует 2–3 бислоям. Таким образом, полученные ниосомы Твин 80 + ХГ можно отнести к малым олиголамеллярным.

Солюбилизация ХГ в мицеллярных растворах Твин 20 привела к более заметному возрастанию размеров

частиц по сравнению с дисперсиями на основе Твин 80. По данным ДРС, в присутствии ХГ со временем средний диаметр частиц возрастал от размеров мицелл Твин 20 ($d_{\text{ср}} = 5.7 \pm 0.1$ нм) до субмикронных. Примерно через 18 суток размер частиц во всех исследованных водных дисперсиях Твин 20 + ХГ с точностью $\pm 8\%$ приобретал неизменное значение ($d_{\text{ср}} = 450 \pm 20$ нм), а ИПД составлял 0.13 ± 0.01 . При этом распределение частиц по размерам является мономодальным, что иллюстрирует Рис. 8, на котором приведены типичные

дифференциальные кривые распределения частиц по размерам на примере водной дисперсии Твин 20 + ХГ ($C_{\text{Тв20}} = 5$ мМ) при различных значениях времени.

Дисперсии Твин 20 + ХГ хранили без доступа света при комнатной температуре ($22.7 \pm 1^\circ\text{C}$) в течение 2 месяцев, периодически проводя ДРС и УФ-спектроскопию. Показано, что распределение частиц по размерам остается мономодальным, а средний диаметр частиц для

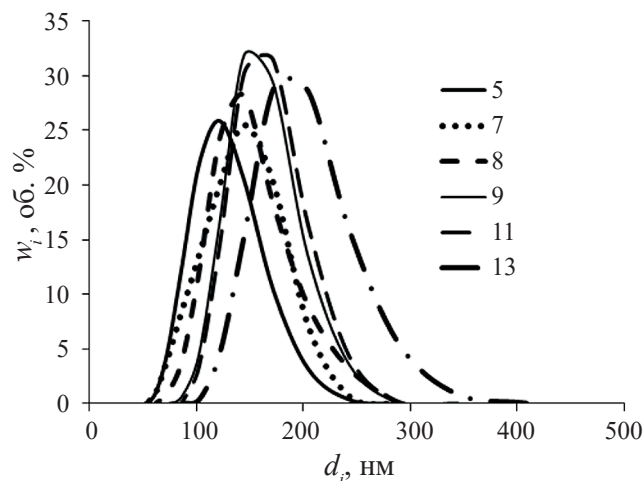


Рис. 6. Дифференциальные кривые распределения частиц по размерам для водных дисперсий Твин 80 + ХГ при различных концентрациях Твин 80 через 8 месяцев хранения. Значения $C_{\text{Тв80}}$ в мМ приведены в легенде.

Fig. 6. Differential curves of particle size distribution for aqueous Tween 80 + CHX dispersions at various concentrations of Tween 80 after 8 months of storage. The values of the barrel in mM are given in the legend.

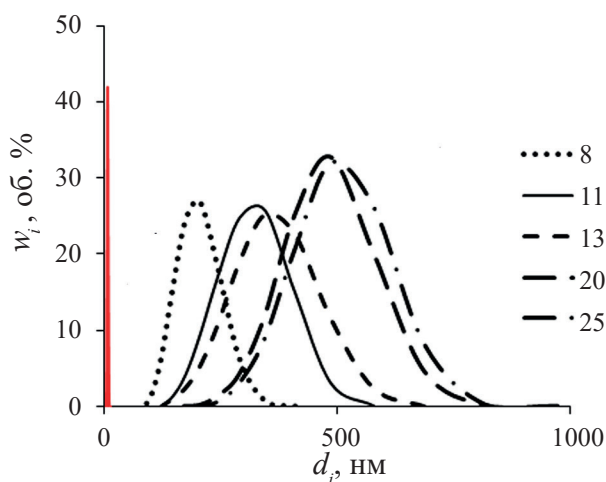


Рис. 8. Дифференциальные кривые распределения частиц по размерам для дисперсии Твин 20 + ХГ (при $C_{\text{Тв20}} = 5$ мМ) при различных значениях времени (значения t в сутках приведены в легенде) и для 5 мМ мицеллярного раствора Твин 20 без ХГ (сплошная линия красного цвета).

Fig. 8. Differential curves of particle size distribution for the Tween 20 + CHX dispersion (at $C_{\text{T20}} = 5$ mM) at different time values (values of t in days are given in the legend) and for a 5 mM micellar solution of Tween 20 without CHX (solid red line).

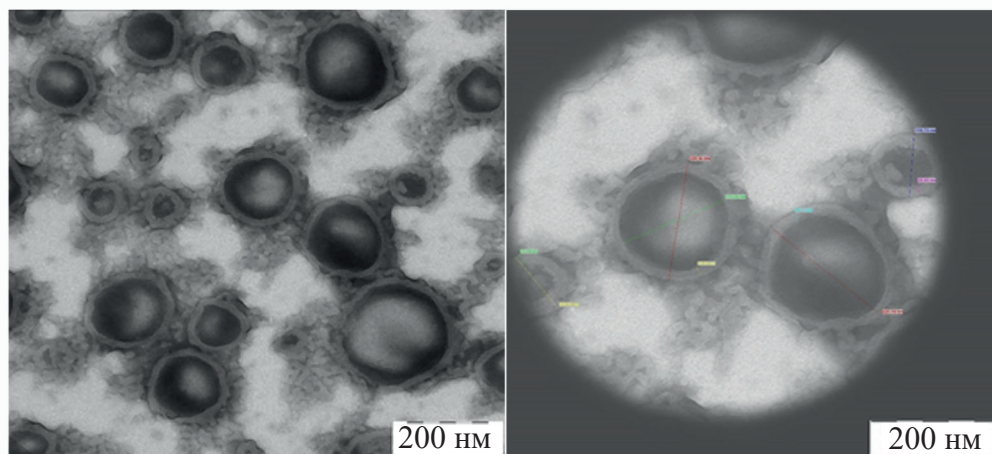


Рис. 7. Микрофотографии ниосом Твин 80 + ХГ при 5 мМ концентрации Твин 80, полученные методом ПЭМ через месяц хранения.

Fig. 7. Micrographs of Tween 80 + CHX niosomes at 5 mM Tween 80 concentration obtained by TEM method after a month of storage.

всех исследованных дисперсий составляет 467 ± 19 нм. Значение СЕ за 60 суток практически не изменилось и оказалось равным 0.49 ± 0.2 моль ХГ/моль Тв20. Таким образом, на основе Твин 20 и ХГ были получены агрегативно устойчивые дисперсные системы с субмикронными размерами частиц, характеризующиеся постоянным молярным соотношением ХГ/Тв20, когда на одну молекулу ХГ приходится примерно 2 молекулы Твин 20, как и в случае ниосом Твин 80 + ХГ.

Для выяснения строения частиц Твин 20 + ХГ использовали метод ПЭМ. Микрофотографии водной дисперсии Твин 20 + ХГ (при $C_{\text{Тв20}} = 5$ мМ) приведены на Рис. 9, на котором обнаружено небольшое количество сферических частиц размером от 200 нм до 1 мкм. На снимках присутствует множество мелких частиц размером до 10 нм, а также единичные крупные частицы с деформированным внешним слоем. Поскольку при подготовке образцов дисперсия подвергалась воздействию фосфорновольфрамовой кислоты и сушке в условиях вакуумирования, можно предположить, что исследуемая дисперсная система подверглась деградации, и на снимках видны мицеллы и лишь незначительное количество уцелевших больших олигоамеллярных и олиговезикулярных ниосом [18].

Полученные водные дисперсии на основе Твин 20 и ХГ были исследованы также методом оптической микроскопии. Образцы дисперсий с концентрацией Твин 20, равной 5 и 11 мМ, наносили на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и исследовали в неполяризованном свете. При наблюдении с помощью оптического микроскопа вначале не удавалось обнаружить частиц, что неудивительно, поскольку по данным ДРС они имеют субмикронные размеры. Однако спустя несколько минут удалось зафиксировать появление микронных частиц сложного строения (Рис. 10а, 10б). Можно предположить, что стабильные в условиях хранения субмикронные ниосомы Твин 20 + ХГ начинают деградировать под давлением покровного

стекла. Как следствие процессов коагуляции и коалесценции возникают крупные олиговезикулярные ниосомы (Рис. 10а, 10б).

Следует отметить очевидное влияние типа углеводородного радикала ПАВ на размер частиц в исследованных системах. Так, в отсутствие ХГ мицеллы Твин 80 имеют большие размеры, нежели мицеллы Твин 20, что коррелирует с меньшей длиной углеводородного радикала у Твин 20. Однако в исследованных квазиравновесных водных дисперсиях ПАВ+ХГ размеры ниосом на основе Твин 80 оказались примерно в 3 раза меньше, чем размеры ниосом на основе Твин 20. Это, по-видимому, обусловлено большей длиной углеводородной цепи и наличием двойной связи у молекул Твин 80, что обеспечивает большую гибкость бислоев. Вследствие меньших конформационных возможностей у молекул Твин 20 бислои оказываются более «жесткими», что приводит к формированию сферических поверхностей меньшей кривизны. Кроме того, следует отметить большую агрегативную устойчивость ниосом Твин 80 + ХГ. Поэтому дальнейшие исследования выполнены с дисперсиями на основе Твин 80.

Для выяснения механизма возникновения 2-компонентных ниосом, прежде всего, необходимо выяснить, наблюдаются ли взаимодействия между молекулами ПАВ и ХГ в водной фазе в отсутствие мицелл. Поэтому была исследована растворимость ХГ в водных растворах Твин 80 с концентрацией ниже ККМ (2.0, 4.0, 6.4, 19.9 мкМ) с помощью УФ-спектроскопии. Спектры поглощения, на основе которых рассчитывалась растворимость ХГ, приведены на рис. 11. Установлено, что в домицеллярной области растворимость ХГ не зависит от концентрации Твин 80 и составляет $(1.87 \pm 0.07) \times 10^{-4}$ М, что практически совпадает с растворимостью ХГ в воде (1.81×10^{-4} М [4]). Отсюда следует вывод об отсутствии взаимодействия между неассоциированными молекулами Твин 80 и ХГ в водной среде.

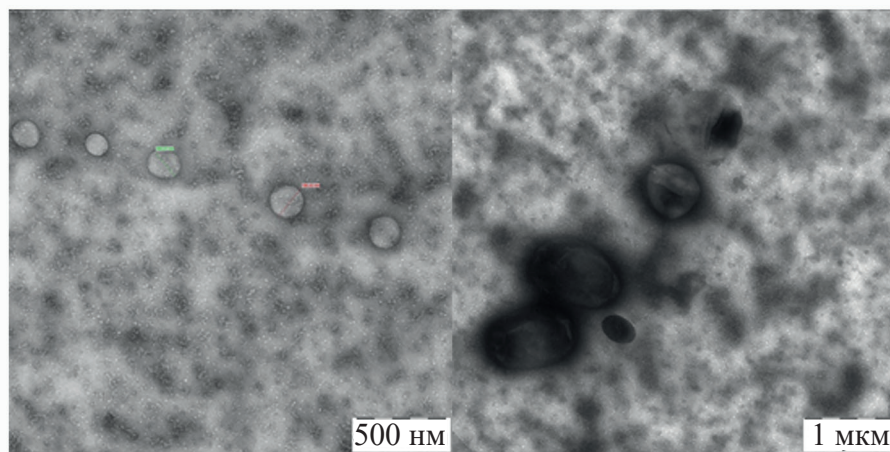


Рис. 9. Микрофотографии водной дисперсии Твин 20 + ХГ (при $C_{\text{Тв20}} = 5$ мМ), полученные методом ПЭМ через месяц хранения.

Fig. 9. Micrographs of the aqueous dispersion of Tween 20 + CHX (at $C_{\text{Тв20}} = 5$ мМ) obtained by the TEM method after a month of storage.

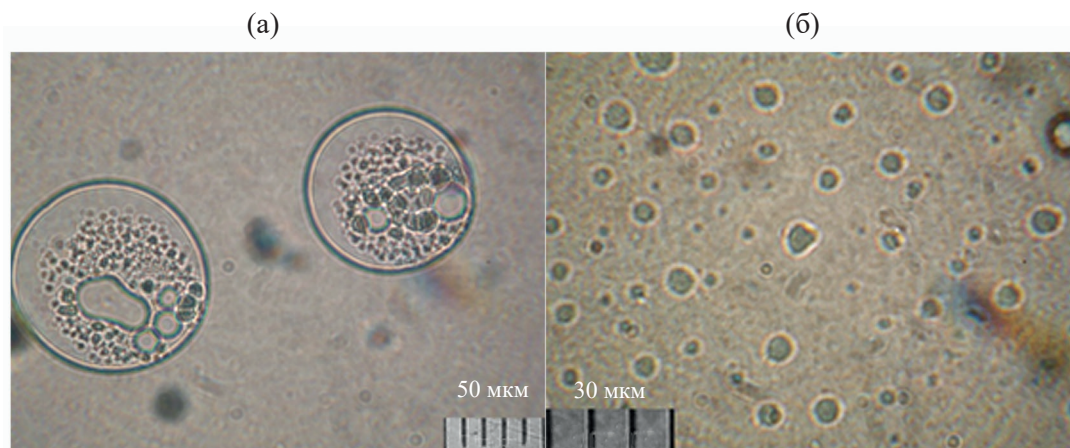


Рис. 10. Микрофотографии для водных дисперсий Твин 20 + ХГ с концентрацией Твин 20, равной 5 мМ (а) и 11 мМ (б), полученные методом ОМ.

Fig. 10. Micrographs for aqueous dispersions of Tween 20 + CHX with a concentration of Tween 20 equal to 5 mM (a) and 11 mM (b) obtained by the OM method.

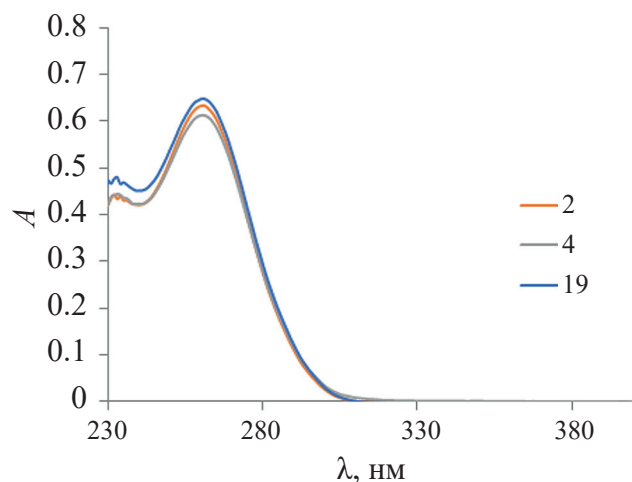


Рис. 11. Спектры поглощения для насыщенных ХГ водных растворов Твин 80 различных концентраций в отсутствие мицелл. Значения $C_{Тв80}$ в мкМ приведены в легенде. Пробы разбавлены н-пропиловым спиртом в 10.2 раз.

Fig. 11. Absorption spectra for CHX-saturated aqueous solutions of Tween 80 of various concentrations in the absence of micelles. The values of the barrel in μM are given in the legend. The samples were diluted with 10.2 times n-propyl alcohol.

Для определения характера взаимодействий между молекулами Твин 80 и ХГ в предельно заполненных адсорбционных слоях на границе с воздухом методом висящей капли были выполнены тензиометрические измерения для следующих систем:

1. Насыщенный водный раствор ХГ ($C_{ХГ} = 1.81 \pm 10^{-4}$ М).
2. Водные мицеллярные растворы Твин 80 (5, 7, 8, 9, 11, 13 мМ).
3. Водные мицеллярные растворы Твин 80 (5, 7, 8, 9, 11, 13 мМ), насыщенные основанием хлоргексидина.

Как показали наши измерения, поверхностное натяжение (σ) насыщенного водного раствора ХГ при 22°C равно 68.6 мДж/м², что лишь немногим меньше поверхностного натяжения воды ($\sigma_0 = 72.4$ мДж/м²). При этом двумерное давление адсорбционного слоя ХГ ($\pi = \sigma_0 - \sigma$) составляет 3.8 мДж/м². Столь малое значение $\pi_{ХГ}$, по-видимому, соответствует предельно разбавленному монослою ХГ на границе водный раствор/воздух (область Генри), для которого характерна линейная зависимость $\pi(C_{ХГ})$. Это позволяет оценить значение поверхностной активности ХГ ($G = \lim(d\pi/dC_{ХГ})_{C \rightarrow 0}$) из отношения $\pi_{ХГ}/C_{ХГ}$. Величина G для основания хлоргексидина равна 2.1×10^4 (мДж/м²)/(моль/л). Стандартную энергию Гиббса адсорбции ХГ рассчитывали из соотношения [33]: $\Delta G^\circ = -RT \ln G = -24.4$ кДж/моль (где R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура). Можно заключить, что основание хлоргексидина адсорбируется на границе раздела водный раствор/воздух, однако формирует лишь предельно разреженные монослои.

В исследованном интервале концентраций поверхностное натяжение водных мицеллярных растворов Твин 80 без добавок, а также насыщенных ХГ дисперсий не зависит от концентрации Твин 80, что свидетельствует о предельном заполнении адсорбционного слоя в обоих случаях. При этом в отсутствие ХГ поверхностное натяжение в среднем составляет 35.9 ± 0.7 мДж/м², а в его присутствии – 30.0 ± 0.9 мДж/м². Можно предположить, что в смешанном адсорбционном слое взаимодействие молекул Твин 80 и ХГ приводит к более плотной упаковке, из-за чего наблюдается уменьшение поверхностного натяжения. Напомним, что в объеме водных бинарных растворов взаимодействия между молекулами Твин 80 и ХГ отсутствовало. По-видимому, концентрирование молекул Твин 80 (в насыщенных монослоях или в мицеллах) является необходимым условием для возникновения водородных

связей N—H...O между молекулами ХГ и оксиэтильными звеньями Твин 80.

Полученные ниосомы Твин 80 + ХГ характеризуются неизменной в течение длительного времени солюбилизационной емкостью по отношению к ХГ, что позволяет рассчитать коэффициент распределения ХГ между ниосомами и водной дисперсионной средой [34]:

$$K_{\text{ХГ}} = X_{\text{Н}} / X_{\text{В}}, \quad (3)$$

где $X_{\text{Н}} = N_{\text{ХГ}} / (N_{\text{Тв80}} + N_{\text{ХГ}}) = \text{СЕ} / (1 + \text{СЕ})$ и $X_{\text{В}}$ — соответственно молярные доли ХГ в ниосомах и в водной фазе, а $N_{\text{ХГ}}$ и $N_{\text{Тв80}}$ — числа молекул ХГ и Тв80 в ниосомах. Величина $X_{\text{В}}$ приблизительно равна молярной доле солюбилизата в воде:

$$X_{\text{В}} \approx S_{\text{В}} / C_{\text{В}} \approx S_{\text{В}} / 55.43, \quad (4)$$

где $S_{\text{В}}$ и $C_{\text{В}}$ — молярные растворимость солюбилизата в воде и концентрация воды ($C_{\text{В}} = 55.43 \text{ М}$ при 22°C).

По нашим расчетам, $K_{\text{ХГ}} = 1.06 \times 10^5$, а значение стандартной энергии Гиббса солюбилизации $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{ХГ}} = -28.4 \text{ кДж/моль}$. Важно подчеркнуть, что полученный нами результат хорошо согласуется с величиной ΔG° солюбилизации ХГ в прямых наноэмульсиях на основе немицеллообразующего полиоксиэтилированного Твин 85 [4]. В работе [4] показано, что ХГ иммобилизован на поверхности наноразмерных капель, благодаря возникновению водородных связей между молекулами ХГ и оксиэтильными звеньями Твин 85.

Для определения локализации молекул ХГ в ниосомах была исследована растворимость основания хлоргексидина в средах, моделирующих лиофильную область бислоя и его гидратированную полиоксиэтилированную периферию. В качестве лиофильной модельной жидкости был выбран гептан. Значение $S_{\text{ХГ}}$ в гептане, полученное нами методом УФ-спектроскопии, составляет $5.75 \pm 10^{-6} \text{ М}$, что в ~ 31.5 раз меньше растворимости ХГ в воде и в водных растворах Твин 80 в отсутствие мицелл (при $C_{\text{Тв80}} < \text{ККМ}$). Поскольку молекула ПЭГ400 содержит примерно 9 оксиэтильных (ОЕ) групп и для 12.5 масс. % водного раствора ПЭГ400 число молекул воды, приходящееся на одну ОЕ-группу, примерно равно 19, что соответствует степени гидратации мицелл Твин 80 [32], этот раствор служил моделью гидратированных полиоксиэтилированных зон бислоев ниосом. Растворимость ХГ в 12.5 масс. % водном растворе ПЭГ400 составляет 6.0 мМ [4], что в 1043 раза превышает его растворимость в гептане. Это свидетельствует о том, что ХГ локализован в гидратированных полиоксиэтилированных зонах бислоев ниосом вследствие возникновения множества водородных связей N—H...O между молекулами биоцида и атомами кислорода ОЕ-групп ПАВ.

На основании полученных данных можно предложить вероятный механизм трансформации сферических мицелл Твин 80, КПУ молекул которого не превышает 1/3, в двухкомпонентные ниосомы вследствие

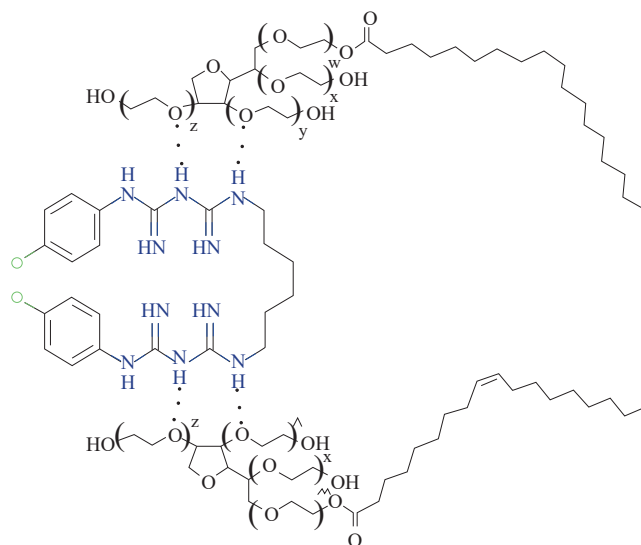


Рис. 12. Схема, иллюстрирующая строение агрегата из молекул Твин 80 и основания хлоргексидина.

Fig. 12. Diagram illustrating the structure of an aggregate of Tween 80 molecules and chlorhexidine base.

солюбилизации ХГ. Мицеллы, полиоксиэтилированная поверхность которых за счет Н-связей постепенно аккумулирует возрастающее количество молекул ХГ, можно рассматривать как зародыши везикулярных частиц. При достижении оптимального соотношения компонентов, когда одна молекула ХГ за счет множественных водородных связей N—H...O связывает две молекулы Твин 80 (Рис. 12), возникают ассоциаты с КПУ, соответствующим формированию концентрических бислоев и перестройке мицелл в ниосомы.

На основе данных УФ-спектроскопии можно оценить эффективность инкапсулирования ХГ в ниосомы ($EE, \%$):

$$EE = [(S_{\text{ХГ}} - S_{\text{в}}) / S_{\text{ХГ}}] 100, \quad (5)$$

где $S_{\text{в}}$ — концентрация ХГ в дисперсионной среде, равная экспериментально найденной растворимости ХГ в предмицеллярных растворах Твин 80, которая практически совпадает с растворимостью ХГ в воде (см. стр. 18); $S_{\text{ХГ}}$ — брутто-концентрация ХГ, включающая как ХГ в дисперсионной среде, так и ХГ в составе ниосом.

Для исследованных дисперсий ниосом на основе Твин 80 эффективность инкапсуляции ХГ составила $96 \pm 2\%$. Это очень высокая степень включения целевого компонента в ниосомы. Следует отметить, что при традиционных методах синтеза ниосом оценка EE невозможна без очистки от незахваченных молекул целевого компонента с помощью центрифугирования, диализа или геле-фильтрации. При инкорпорировании в ниосомы гидрофильных ЛВ эффективность включения невысока и варьируется от 3 до 20%, тогда как для лиофильных ЛВ значения EE составляют 50–98% [10, 16].

Массоперенос ХГ ниосомами в водной среде исследовали методом УФ-спектроскопии с использованием ячейки Франца. Концентрация Твин 80 в тестируемых системах составляла 0.9 и 1.8 мМ. Поскольку практически весь ХГ находится в ниосомальной форме, присутствием его молекул в дисперсионной среде можно пренебречь. Исходную концентрацию биоцида в донорной части ячейки Франца ($C_{\text{оХГ}}$, мкг/см³) рассчитывали из соотношения:

$$C_{\text{оХГ}} = (C_{\text{Тв80}} - \text{ККМ}_{\text{Тв80}}) \times \text{СЕМ}_{\text{ХГ}} \times 1000, \quad (6)$$

где значение $\text{ККМ}_{\text{Тв80}}$ приведено в таблице (см. раздел 2.1); СЕ ниосом равно 0.5 моль ХГ/моль Тв80 (см. выше данный раздел); $M_{\text{ХГ}}$ — молекулярная масса ХГ, равная 505.45 г/моль.

Согласно (6), для тестируемых дисперсий с 0.9 и 1.8 мМ концентрациями Твин 80 значения $C_{\text{оХГ}}$ соответственно составили 223 и 446 мкг/см³, а исходное количество биоцида в донорном отсеке — 1680 и 3345 мкг. Поскольку в наших опытах объемы тестируемой дисперсии и приемной среды были равны, то количество ХГ (в %), перенесенное в донорскую ячейку к данному моменту времени, можно оценивать из соотношения: $(Q_{\text{ХГ}}/C_{\text{оХГ}}) \times 100$.

Кинетика массопереноса ХГ ниосомами для двух исследованных водных дисперсий представлена на Рис. 13а, 13б. При меньшей концентрации Твин 80 (0.9 мМ) зависимость $Q_{\text{ХГ}}(t)$ в интервале от 2.5 до 24 ч хорошо описывается линейным уравнением (Рис. 13а), численный коэффициент при t которого равен скорости массопереноса — 1.27 мкг/(см³×час). Это означает, что уже через 2.5 ч процесс приобретает стационарный характер. На Рис. 13а видно, что практически сразу наблюдается превышение минимальной

ингибирующей концентрации ХГ по отношению к широкому кругу патогенных микроорганизмов (МИК = 1–20 мкг/см³ [35, 36]). Как показали расчеты, за сутки транспортировано 23.7% ХГ от его первоначального количества в донорной ячейке. Поскольку размер пор мембраны (800 нм) более чем на порядок величины превышает размер ниосом, можно полагать, что скорость массопереноса не зависит от свойств мембраны, а определяется диффузией ниосом в водной дисперсионной среде.

Как следует из Рис. 13б, при $C_{\text{Тв80}} = 1.8$ мМ для интервала времени от 2.6 до 25 ч скорость массопереноса ХГ постоянна (6.85 мкг/(см³×час)), далее процесс продолжает оставаться стационарным, но скорость массопереноса уменьшается в ~16 раз. По нашим расчетам, за первые сутки ниосомами транспортировано 49.3% ХГ, тогда как в последующие трое суток — лишь еще 6.7%. При этом практически сразу была превышена ингибирующая широкий спектр патогенов минимальная концентрация ХГ.

Для исследованных дисперсий зависимость количества ХГ, перенесенного ниосомами через единицу площади мембраны (J , мкг/см²), от $t^{1/2}$ оказалась линейной. Так, при $C_{\text{Тв80}} = 0.9$ мМ — $J = 1.12 t^{1/2} + 59.46$ ($R^2 = 0.973$), а при $C_{\text{Тв80}} = 1.8$ мМ — $J = 5.59 t^{1/2} - 93.52$ ($R^2 = 0.991$). В соответствии со 2-м законом Фика линейность полученных кинетических зависимостей свидетельствует о диффузионном характере массопереноса ХГ ниосомами в водной среде.

Анализ спектрофотометрических данных, полученных с использованием ячейки Франца для ниосом Твин 80 + ХГ, позволил заключить:

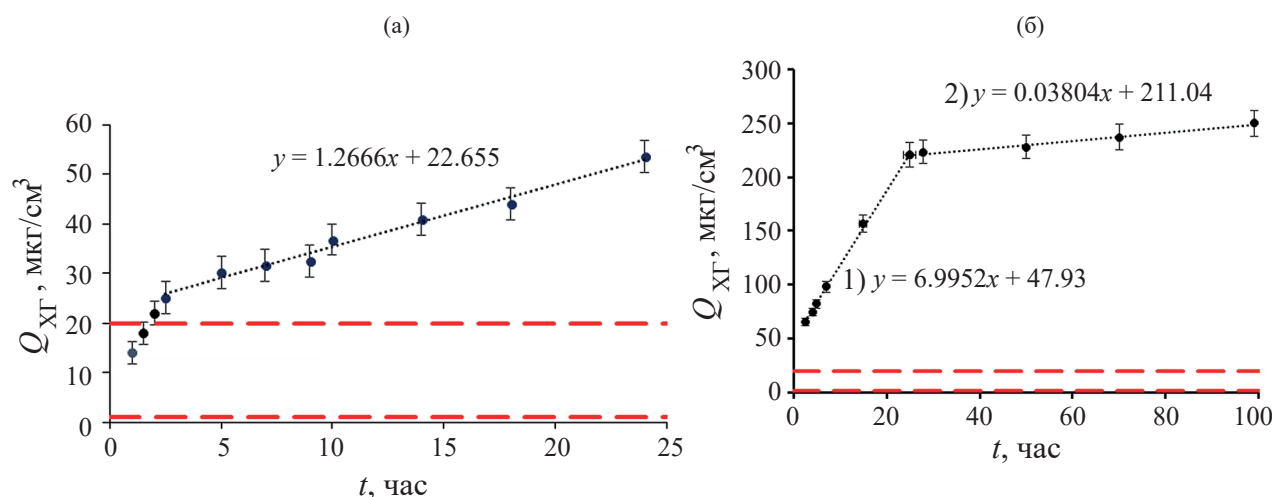


Рис. 13. Кинетические зависимости количества ХГ, перенесенного ниосомами, полученными при различных концентрациях Твин 80: 0.9 мМ (а) и 1.8 мМ (б). Пунктирами обозначен интервал значений минимальной ингибирующей концентрации для ХГ.

Fig. 13. Kinetic dependences of the amount of CHX transferred by niosomes obtained at different concentrations of Tween 80: 0.9 mM (a) and 1.8 mM (b). The dotted lines indicate the range of values of the minimum inhibitory concentration for CHX.

- В течение первых 2–3 часов скорость массопереноса ХГ уменьшается и далее остается постоянной в течение суток.
- В стационарных условиях скорость массопереноса ХГ возрастает с увеличением концентрации Твин 80, что, по-видимому, обусловлено ростом числа носителей — ниосом.
- Практически сразу достигается превышение значений МИК для ХГ.

Таким образом, двухкомпонентные ниосомы на основе Твин 80 являются эффективными переносчиками данного биоцида в водной среде, при этом скорость массопереноса можно регулировать, изменяя концентрацию ПАВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально подтверждено, что обладающее бактерицидными свойствами основание хлоргексидина, молекулы которого способны формировать

множественные Н-связи с оксиэтильными группами ПАВ, является эффективной функциональной добавкой при получении на основе полиоксидилованных мицеллообразующих ПАВ ниосом — эффективных переносчиков биоцида в водной среде. Солюбилизация ХГ в водных мицеллярных растворах полиоксидилованных ПАВ (Твин 80 и Твин 20) при мольном соотношении компонентов ХГ/ПАВ, равном 1/2, приводит к трансформации мицелл в ниосомы. Предложен механизм этой структурной перестройки. Таким образом, впервые разработан и апробирован способ синтеза ниосом, обеспечивающий высокую инкапсуляцию биоцида ($96 \pm 2\%$), не требующий использования легколетучих органических растворителей и специального оборудования, без которых не обходится обычная практика. С учетом экспериментально доказанных существенных преимуществ жидкокристаллической формы основания хлоргексидина в качестве бактерицидного агента [5] можно предположить, что ниосомальная форма ХГ будет обладать антимикробными свойствами широкого спектра действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Senior N.* Some observations on the formulation and properties of chlorhexidine // *Soc. Cosmet. Chem.* 1973. V. 24. № 4. P. 259–278.
2. *Zeng P., Rao A., Wiedmann T.S., Bowles W.* Solubility properties of chlorhexidine salts // *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2009. V. 35. № 2. P. 172–176.
<https://doi.org/10.1080/03639040802220318>
3. *Graham W.D.* Chlorhexidine // *Disinfection, Sterilization, and Preservation.* (Ed. by Block S. S.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2001. P. 321–336.
4. *Задымова Н.М., Тао М., Потешнова М.В.* Прямые эмульсии Твин 85 с инкорпорированным основанием хлоргексидина // *Коллоидн. журн.* 2018. Т. 80. № 2. С. 168–176.
<https://doi.org/10.7868/S0023291218020052>
5. *Кардаш Г.Г., Артеманин Ж.-К., Хапкина Е.Н., Герасимов В.Н.* Лиотропный жидкий кристалл хлоргексидина основания, антисептическая и дезинфицирующая композиции // Патент RU 2750598 С1. Опубликовано: 29.06.2021. Бюл. № 19
6. *Seleci D.A., Seleci M., Walter J.-G., Stahl F., and Scheper T.* Niosomes as nanoparticulate drug carriers: fundamentals and recent applications // *J. Nanomater.* 2016. V. 2016. P. 7372306.
<https://doi.org/10.1155/2016/7372306>
7. *Kulkarni P., Hiraskar A.L.* Niosomes: a novel drug delivery system // *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2024. V. 15. № 10. P. 2933–2942.
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.15\(10\).2933-42](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.15(10).2933-42)
8. *Bartels R., Nematollahi M.H., Pols T., Stuart M.C.A., Pardakhty A., Asadikaram G., et al.* Niosomes, an alternative for liposomal delivery // *PLOS ONE.* 2018. V. 13. № 4. P. 1–18.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194179>
9. *Sharma R., Dua J., and Parsad D.* An overview on niosomes: Novel pharmaceutical drug delivery system // *JDDT.* 2022. V. 12. № 2. 171–177.
<https://doi.org/10.22270/jddt.v12i2-S.5264>
10. *Mawazi S.M., Ge Y., Widodo R.T.* Niosome preparation techniques and structure—An illustrated review // *Pharmaceutics.* 2025. V. 17. № 1. P. 67.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17010067>
11. *Antonara L., Triantafyllou E., Chountoules M., Pippa N., Lagopati N., Dallas P.P., Rekkas D.M. and Gazouli M.* Recent advances in niosome-based transdermal drug delivery systems // *Curr. Opin. Biomed. Eng.* 2025. V. 35. P. 100603.
<https://doi.org/10.1016/j.cobme.2025.100603>

12. *Sharma S., Garg A., Agrawal R., Chopra H., Pathak D.* A comprehensive review on niosomes as a tool for advanced drug delivery // *Pharm. Nanotechnol.* 2024. V. 12. № 3. P. 206–228.
<https://doi.org/10.2174/2211738511666230726154557>
13. *Aparajay P., Dev A.* Functionalized niosomes as a smart delivery device in cancer and fungal infection // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2022. V. 168. P. 106052.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106052>
14. *Riccardi D., Baldino L., Reverchon E.* Liposomes, transfersomes and niosomes: production methods and their applications in the vaccinal field // *J. Transl. Med.* 2024. V. 22. P. 339.
<https://doi.org/10.1186/s12967-024-05160-4>
15. *Шахова В.Н.* Структурные особенности ниосомальных везикул // *Сельскохозяйственный журнал.* 2020. Т. 13. № 5. С. 88–93.
<https://doi.org/10.25930/2687-1254/015.5.13.2020>
16. *Кушназарова Р.А., Миргородская А.Б., Захарова Л.Я.* Ниосомы, модифицированные катионными поверхностно-активными веществами, для увеличения биодоступности и стабильности индометацина // *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2021. № 3. С. 585–591.
17. *Kushnazarova R., Mirgorodskaya A., Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Lenina O., Petrov K., Zakharova L.* Improving the stability, water solubility, and antioxidant activity of α -tocopherol by encapsulating it into niosomes modified with cationic carbamate-containing surfactants // *Langmuir.* 2024. V. 40. № 43. P. 22684–22692.
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.4c02507>
18. *Moghassemia S., Hadjizadeh A.* Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review // *J. Control. Release.* 2014. V. 185. P. 22–36.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.015>
19. *Manosroi A., Wongtrakul P., Manosroi J., Sakai H., Sugawara F., Yuasa M., Abe M.* Characterization of vesicles prepared with various non-ionic surfactants mixed with cholesterol // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2003. V. 30. № 1–2. P. 129–138.
[https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(03\)00080-8](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(03)00080-8)
20. *Kumar G.P., Rajeshwarrao P.* Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery – an overview // *Acta Pharm. Sin. B.* 2011. V. 1. № 4. P. 208–219.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2011.09.002>
21. *Israelashvili J.N.* Intermolecular and surface forces, with applications to colloidal and biological systems // London: Academic Press, 1985. P. 247.
22. *Berg J.C.* An Introduction to Interfaces and Colloids. The Bridge to Nanoscience. // World Scientific Publishing. 2010, P. 785.
23. *Nasseri B.* Effect of cholesterol and temperature on the elastic properties of niosomal membranes // *Int. J. Pharm.* 2005. V. 300. № 1–2. P. 95–101.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.05.009>
24. *Biswal S., Murthy P.N., Sahu J., Sahoo P., Amir F.* Vesicles of non-ionic surfactants (niosomes) and drug delivery potential // *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.* 2008. V. 1. № 1. P. 1–8.
<https://doi.org/10.37285/ijpsn.2008.1.1.1>
25. *Khillari G.M., Parande B.S., Dongaonkar C.C., Humbad D.N.* Niosomes as novel drug delivery system // *Int. J. for Research Trends and Innovation.* 2022. V. 7. № 6. P. 1115–1121.
<https://ijrti.org/papers/IJRTI2206176.pdf>
26. *Kathoke G.G., Shelke P.U., Kale A.S., Bedre A.B.* Niosomes: A review of their structure, types, method of preparation, characterization and application // *Int. Adv. Res. Sci. Commun. Technol.* 2025. V. 5. № 8. P. 259–273.
<https://doi.org/10.48175/IJARST-24535>
27. *Задымова Н.М., Малашихина А.А.* Наноэмульсии полиоксиэтилен (4) лаурилового эфира с солюбилизированным основанием хлоргексидина // *Коллоидн. журн.* 2023. Т. 85. № 3. С. 296–306.
<https://doi.org/10.31857/S0023291223600074>
28. *Inoue Y., Hagi A., Nii T., Tsubotani Y., Nakata H., and Iwata K.* Novel antiseptic compound OPB-2045G shows potent bactericidal activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* both *in vitro* and *in vivo*: a pilot study in animals // *J. Med. Microbiol.* 2015. V. 64. № 1. P. 32–36.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.080861-0>

29. Cao Z., Spilker T., Fan Y., Kalikin L.M., Ciotti S.M., LiPuma J.J., Makidon P.E., Wilkinson J.E., Baker J.R., Wang S.H. Nanoemulsion is an effective antimicrobial for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in infected wounds // *Nanomedicine*. 2017. V. 12. № 10. P. 1177–1185.
<https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0025>
30. Шенфельд Н. Поверхностно-активные вещества на основе оксида этилена. М.: Химия, 1982.
31. Русанов А.И. Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. СПб.: Химия, 1992. 280 с.
32. Задымова Н.М., Иванова Н.И. Смешанные мицеллы на основе Твин 80 как носители фелодипина в водной среде // *Коллоидн. журн.* 2013. Т. 75. № 2. С. 176–190.
<https://doi.org/10.7868/S0023291213020201>
33. Практикум по коллоидной химии / Под ред. Куличихина В.Г. М.: Вузовский учебник: ИНФРА-М, 2014.
34. Hoiland H., Blokhus A.M. Solubilization in aqueous surfactant systems // *Handbook of Surface and Colloid Chemistry*. Ed. Birdi K.S. Boca Raton: CRC Press, 2008. P. 379–414.
<https://doi.org/10.1201/9781420040944>
35. Musial W., Voncina B., Pluta J., Kokol V. The study of release of chlorhexidine from preparations with modified thermosensitive poly-N-isopropylacrylamide microspheres // *Sci. World J.* V. 2012. P. 243707.
<https://doi.org/10.1100/2012/243707>
36. Фаергеманн Я. Противомикробная композиция // Патент RU 2 500 394 С2, опубликован 10.12.2013. Бюл. № 34.