

ВЛИЯНИЕ СОЛЮБИЛИЗАТОРОВ РАЗЛИЧНОГО ТИПА НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ СВОЙСТВА СИЛИБИНИНА

М.А. Агафонов, Е.С. Делягина, И.В. Терехова

Михаил Андреевич Агафонов*, Ирина Владимировна Терехова

Химия олигосахаридов и функциональных материалов на их основе, Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, ул. Академическая, 1, Иваново, Российская Федерация, 153045

E-mail: ama@isc-ras.ru, ivt@isc-ras.ru

Екатерина Сергеевна Делягина

Институт математики, информационных технологий и естественных наук, Ивановский государственный университет, ул. Ермака, 39, Иваново, Российская Федерация, 153025

E-mail: katerina.chibunova@yandex.ru

*Цель данной работы состояла в *in vitro* определении влияния различных классов солюбилизаторов на растворимость и мембранную проницаемость силибинина. Силибинин - лекарственное соединение природного происхождения, обладающее широким спектром терапевтической активности. Он используется в лечении сердечно-сосудистых и ряда онкологических заболеваний. Несмотря на перспективность применения силибинина, он имеет низкие показатели биодоступности из-за плохой растворимости в воде. В связи с этим, в данной работе проведен поиск путей повышения растворимости силибинина. Растворимость силибинина была определена в присутствии солюбилизаторов различной природы (поливинилпирролидон, гидроксипропил- β -циклодекстрин, плуроник F127 и додецилсульфат натрия). Обнаружено, что плуроник F127 и гидроксипропил- β -циклодекстрин являются наиболее эффективными солюбилизаторами. Включение силибинина в мицеллы плуроника и в макроциклическую полость циклодекстрина способствует улучшению растворимости в водной среде. Методом механоактивации были получены твердые дисперсии силибинина с гидроксипропил- β -циклодекстрином с улучшенными показателями растворимости. С помощью диффузионной ячейки Франца были определены коэффициенты мембранной проницаемости силибинина через целлюлозную мембрану. Как было установлено, мембранная проницаемость силибинина в присутствии солюбилизаторов уменьшается. Это может быть обусловлено взаимодействиями, происходящими в растворе между молекулами лекарственного соединения и солюбилизатора. Несколько более выраженное понижение коэффициентов проницаемости для мицеллярных систем с плуроником и додецилсульфатом натрия обусловлено также повышением вязкости растворов. Циклодекстрины и неионогенные ПАВ проявляют наиболее сильно выраженное солюбилизующее действие по отношению к силибинину, обусловленное, соответственно, образованием водорастворимых комплексов включения и проникновением лекарственного соединения в мицеллы ПАВ.*

Ключевые слова: силибинин, солюбилизация, мембранная проницаемость, комплексообразование

INFLUENCE OF DIFFERENT TYPES OF SOLUBILIZERS ON PHARMACOLOGICALLY IMPORTANT PROPERTIES OF SILIBININ

M.A. Agafonov, E.S. Delyagina, I.V. Terekhova

Mikhail A. Agafonov*, Irina V. Terekhova

Chemistry of Oligosaccharides and Functional Materials based on them, G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the RAS, Akademicheskaya st., 1, Ivanovo, 153045, Russia

E-mail: ama@isc-ras.ru*, ivt@isc-ras.ru

Ekaterina S. Delyagina

Institute of Mathematics, Information Technologies and Natural Sciences, Ivanovo State University, Ermaka st., 39, Ivanovo, 153025, Russia

E-mail: katerina.chibunova@yandex.ru

The aim of this work was to determine in vitro the effect of different classes of excipients on the solubility and membrane permeability of silibinin. Silibinin is a medicinal compound of natural origin with a wide spectrum of therapeutic activity. It is used in the treatment of cardiovascular diseases and a number of cancers. Despite the promising use of silibinin, it has low bioavailability due to the poor aqueous solubility. In this regard, the ways to increase the solubility of silibinin were examined in this work. The solubility of silibinin was determined in the presence of solubilizers of various nature (polyvinylpyrrolidone, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, Pluronic F127 and sodium dodecyl sulfate). It was found that Pluronic F127 and hydroxypropyl- β -cyclodextrin are the most effective solubilizers. The insertion of silibinin into Pluronic micelles and into the macrocyclic cavity of cyclodextrin improves the aqueous drug solubility. The grinding was used to obtain solid dispersions of silibinin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin with improved solubility. Using a Franz diffusion cell, the coefficients of membrane permeability of silibinin through the cellulose membrane were determined. It was found that the membrane permeability of silibinin decreases in the presence of solubilizers. This may be due to interactions occurring in solution between the molecules of the drug and the solubilizer. A slightly more pronounced decrease in the permeability coefficients for micellar systems with Pluronic and sodium dodecyl sulfate is also due to an increase in the viscosity of solutions. Cyclodextrins and nonionic surfactants exhibit the most pronounced solubilizing effect with respect to silibinin, due to the formation of water-soluble inclusion complexes and the penetration of the drug compound into surfactant micelles, respectively.

Key words: silibinin, solubilization, membrane permeability, complexation

Для цитирования:

Агафонов М.А., Делягина Е.С., Терехова И.В. Влияние солюбилизаторов различного типа на фармакологически значимые свойства силибинина. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2022. Т. 65. Вып. 4. С. 47–55

For citation:

Agafonov M.A., Delyagina E.S., Terekhova I.V. Influence of different types of solubilizers on pharmacologically important properties of silibinin. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2022. V. 65. N 4. P. 47–55

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день основную роль в открытии и получении новых биологически активных и потенциально лекарственных соединений выполняет тонкий органический синтез и методы компьютерного моделирования. Однако давно известные соединения природного происхождения также достойны отдельного внимания, поскольку обладают очень широким спектром терапевтического действия и минимальными побочными эффектами. Одним из таких веществ является силибинин (СЛБ). Силибинин выделяется из природного экстракта силимарина, который, в свою очередь, синтезируется в семенах и плодах растения расторопши пятнистой [1, 2]. Силибинин относится к группе флаволигнанов, обладает гепатопротекторным действием [3, 4], используется в лечении сердечно-сосудистых и ряда онкологических заболеваний [5]. Терапевтическая активность

силибинина в отношении печени объясняется стимуляцией регенерации гепатоцитов [6, 7]. Антиоксидантные и гепатопротекторные свойства силибинина хорошо изучены *in vitro* [8-10]. Силибинин стабилизирует клеточные мембраны, выводит различные токсины, такие как тиоацетамид, диэтилнитрозамин, ацетаминофен и бромбензол [11].

Несмотря на перспективность использования силибинина в фармацевтической отрасли, он имеет низкие показатели биодоступности. В первую очередь речь идет о плохой растворимости в воде [12-16], низкой стабильности самого соединения в организме [17] и коротком периоде полувыведения. По биофармацевтической классификационной системе силибинин относится ко II классу соединений [18].

В настоящее время для решения проблемы плохой растворимости лекарственных соединений используются различные подходы, как, например, диспергирование [19-21], синтез наночастиц [22, 23],

получение твердых дисперсий [24, 25], сокристаллов [26] и солевых форм [27, 28], комплексообразование по типу гость-хозяин [29, 30] и др. Как известно из литературы, предпринимались различные подходы к улучшению биофармацевтических характеристик силибинина. Например, был синтезирован силибинин-фосфатидилхолиновый комплекс, известный как препарат «Силипид». Он показал повышенную эффективность против рака по сравнению с обычным силибинином, однако это соединение оказалось органоспецифичным и плохо проникало в ткани [31, 32].

В качестве потенциальных лекарственных носителей в настоящее время также используются мицеллообразующие соединения, среди которых додецилсульфат натрия и блок-сополимеры – плуроники. Додецилсульфат натрия обладает свойствами поверхностно-активных веществ и в водной среде способен к самоассоциации, образуя мицеллы, которые могут захватывать молекулы лекарственного вещества, увеличивая при этом их растворимость в полярных растворителях и защищая лекарство от структурной деградации [33]. Плуроники являются синтетическими блок-сополимерами, которые состоят из двух гидрофильных этиленоксидных цепей и одной гидрофобной цепи пропиленоксида. Плуроники склонны к образованию мицелл в водном растворе, при этом ядро таких мицелл гидрофобное, а внешняя оболочка гидрофильная [34]. Из литературных источников известно, что плуроники применялись для повышения биодоступности силибинина. Так в работе [35] плуроник F127 в составе жидкокристаллической матрицы на основе глицерилмоноолеата показал возрастание пероральной биодоступности лекарства в 3,5 раза по сравнению с промышленной формой препарата. Также известно применение плуроника F127 в качестве ингибитора осаждения силибинина в самоэмульгирующихся системах доставки [36], при этом было показано, что чем больше содержание полимера в составе наноземульсии, тем выше эффективность растворения силибинина.

Внимание многих исследователей также привлекает класс олигосахаридов, к числу которых относятся циклодекстрины (ЦД), которые благодаря своему природному происхождению не токсичны и способны образовывать комплексы по типу «гость-хозяин» с молекулами различных лекарственных соединений [37]. Использование ЦД как систем доставки и повышения растворимости лекарственных соединений активно изучается в настоящее время [38, 39]. В работе [40] комплекс

силибинина с гидроксипропил- β -циклодекстрином проявлял повышенную биодоступность соединения при пероральном введении. В частности, биодоступность силибинина *in vivo* увеличилась в 6,6 раз по сравнению с чистым лекарством. В другом исследовании [41] авторы применяли гидроксипропил- β -циклодекстрин в качестве криопротектора при получении наночастиц силибинина с гидроксипропилметилцеллюлозой. Выбор этого циклодекстрина был обоснован предварительными экспериментами, в которых его добавление устраняло преждевременную агрегацию наночастиц в процессе сублимационной сушки. Авторы отмечают, что использование гидроксипропил- β -циклодекстрина в данном случае хоть и опосредованно, но также будет стимулировать повышение растворимости лекарства.

Одним из способов повышения растворимости лекарств является метод твердых дисперсий. Твердая дисперсия представляет собой дисперсию одного или более активных фармацевтических ингредиентов в матрице носителя на молекулярном уровне [42]. В качестве носителей для твердой дисперсии используются различные синтетические или природные полимеры. Как показал обзор литературы, твердые дисперсии силибинина с некоторыми носителями были получены ранее. В частности, Аркари с соавт. [43] разработали комплекс силибинина с β -циклодекстрином, который увеличивал растворимость лекарства. Саном с соавт. [44] была приготовлена твердая дисперсия на основе силибинина и поливинилпирролидона. Включение лекарственного средства в полимерную матрицу может усиливать защиту лекарства от разложения, позволяет контролировать его высвобождение, улучшать абсорбцию, усиливать терапевтический эффект [45].

Солубилизация лекарств за счет образования водорастворимых комплексов и ассоциатов является достаточно эффективным методом, однако может привести к снижению способности фармакологически активного соединения проникать через клеточные мембраны. Как было показано Бейгом и др. [46], существует взаимосвязь между растворимостью и проницаемостью лекарственного вещества в случаях, когда вспомогательные вещества используются для повышения растворимости высоко липофильных соединений. Поэтому эффективность использования солубилизаторов должна подтверждаться *in vitro* экспериментами по проницаемости и/или *in vivo* экспериментами по определению биодоступности препарата. Исходя из сказанного выше, цель данной работы состояла в *in*

in vitro определении влияния различных классов солюбилизаторов на растворимость и мембранную проницаемость силибинина.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Растворимость силибинина была определена методом изотермического насыщения при температуре 25 °С. Образцы помещали в среду растворения (вода или фосфатный буфер pH 7,4) таким образом, чтобы раствор существовал в равновесии с донной фазой. Насыщение проходит при непрерывном взбалтывании (1100 об/мин) в термостатируемом шейкере (Eppendorf ThermoMixer C) в течение 2-3 сут. В ходе установления равновесия контролировалось обязательное присутствие донной фазы, которая затем отделялась от раствора центрифугированием при 25 °С (центрифуга Thermo Scientific MicroCL 21R). Растворы фильтровались, и концентрация силибинина определялась спектрофотометрически (спектрофотометр Shimadzu UV-1800, Япония) при определенной длине волны. Каждый эксперимент повторялся трижды, погрешность определения растворимости не превышала 2%.

Проницаемость чистого силибинина и в присутствии рассматриваемых солюбилизаторов была определена с помощью диффузионной ячейки Франца (PermeGear, США) при температуре 37 °С. Прибор состоит из двух камер – донорной, содержащей раствор с силибинином, и акцепторной, заполненной чистым буфером. Камеры разделены мембраной так, что поверхность мембраны с одной стороны находится в контакте с раствором, содержащим лекарство, а с другой стороны – с чистым буферным раствором, в который в ходе эксперимента проникает лекарство. В качестве модельной мембраны была использована целлюлозная полупроницаемая мембрана (MWCO 12000 Да). Для оценочного исследования проницаемости часто используются синтетические полимерные мембраны. Их преимуществами являются инертность и коммерческая доступность. Синтетические мембраны состоят из тонких слоев полимерных макромолекул, которые контролируют прохождение компонентов через них.

Отбор проб производится из акцепторной камеры с временным интервалом 30 мин, при этом отобранный объем пробы компенсировался чистым буферным раствором. Концентрация силибинина в акцепторной ячейке определялась спектрофотометрически (спектрофотометр Shimadzu UV-1800, Япония).

На основании полученных данных строились зависимости концентрации силибинина (C) от времени (t), из угла наклона которых рассчитывали поток вещества (J) по формуле:

$$J = \frac{dC}{dt \cdot A}, \quad (1)$$

где dC/dt – изменение во времени концентрации вещества в акцепторной ячейке; A – площадь мембраны, находящейся в контакте с раствором. Эксперимент для каждой из систем проводился трижды для контроля воспроизводимости.

Коэффициент проницаемости (P) является количественной характеристикой способности конкретного вещества проникать через мембрану. Коэффициент проницаемости рассчитывается на основе потока J и начальной концентрации вещества (C_0) в донорной камере:

$$P = \frac{J}{C_0} \quad (2)$$

Коэффициент проницаемости близок коэффициенту диффузии, но зависит не только от природы вещества и температуры, но и от свойств мембран.

Твердые дисперсии силибинина были получены методом механоактивации. Механохимический способ включает использование такой механической энергии, как энергия сжатия, сдвига и трения для перевода находящегося в твердом состоянии лекарственного вещества в аморфное состояние и для улучшения его дисперсного распределения в носителе. С этой целью кристаллические образцы силибинина и носителя смешивали и подвергали сухому перемолу на планетарной мельнице (Fritsch Pulverisette 7, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Растворимость силибинина была определена в присутствии солюбилизаторов различной природы методом изотермического насыщения при 25 °С. В качестве солюбилизаторов использовались гидроксипропил- β -циклодекстрин (ГП- β -ЦД), поливинилпирролидон (ПВП К-29), плюроник F127 (F127) и додецилсульфат натрия (ДСН).

На рис. 1 приведены полученные значения растворимости силибинина в чистых растворителях (вода и фосфатный буфер pH = 7,4) и с содержанием солюбилизаторов. Как видно из диаграммы, растворимость чистого силибинина в слабощелочной среде (pH = 7,4) выше, чем в воде, что можно объяснить диссоциацией гидроксильных групп лекарственного соединения в данной среде. Из литературы [47] известно, что силибинин дис-

социирует по нескольким ступеням (таблица). Диаграмма долевого распределения различных форм силибинина в зависимости от pH, рассчитанная по программе RRSU [48], приведена на рис. 2. Как видно, при pH = 7,4 силибинин присутствует в растворе в ионизационном состоянии. Как правило, анионные формы имеют большее сродство к воде, что определяет наблюдаемое повышение растворимости лекарства в слабощелочной среде.

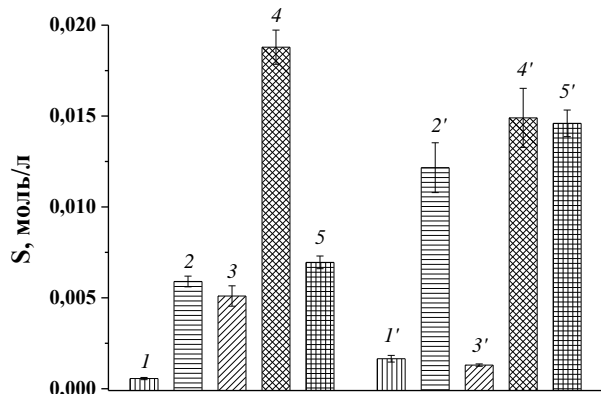


Рис. 1. Растворимость силибинина в присутствии различных солюбилизаторов при 25 °С: 1 – вода; 2 – водный раствор ДСН (10 мас. %); 3 – водный раствор ПВП (10 мас. %); 4 – водный раствор F127 (5 мас. %); 5 – водный раствор ГП-β-ЦД (10 мас. %); 1' – буферный раствор pH=7,4; 2' – буферный раствор ДСН (10 мас. %); 3' – буферный раствор ПВП (10 мас. %); 4' – буферный раствор F127 (5 мас. %); 5' – буферный раствор ГП-β-ЦД (10 мас. %)

Fig. 1. Solubility of silibinin in the presence of various solubilizers at 25 °C: 1 – water; 2 – aqueous solution of SDS (10 wt%); 3 – aqueous solution of PVP (10 wt%); 4 – aqueous solution of F127 (5 wt%); 5 – aqueous solution of HP-β-CD (10 wt%); 1' – phosphate buffer pH=7.4; 2' – SDS (10 wt%) in phosphate buffer pH=7.4; 3' – PVP (10 wt%) in phosphate buffer pH=7.4; 4' – F127 (5 wt%) in phosphate buffer pH=7.4; 5' – HP-β-CD (10 wt%) in phosphate buffer pH=7.4

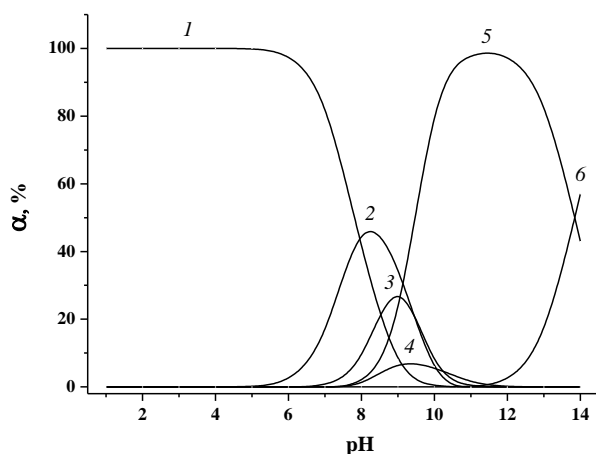


Рис. 2. Диаграмма долевого распределения различных форм силибинина в зависимости от pH среды: 1 – H₅L, 2 – H₄L⁻, 3 – H₃L²⁻, 4 – H₂L³⁻, 5 – HL⁴⁻, 6 – L⁵⁻

Fig. 2. Distribution of various forms of silibinin depending on the pH: 1 – H₅L, 2 – H₄L⁻, 3 – H₃L²⁻, 4 – H₂L³⁻, 5 – HL⁴⁻, 6 – L⁵⁻

Сравнительный анализ данных, представленных на рис. 1, показывает, что влияние рассматриваемых солюбилизаторов на растворимость силибинина проявляется в следующей последовательности F127 > ГП-β-ЦД > ДСН > ПВП. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что плуроник F127 является наиболее эффективным солюбилизатором, его 5 мас. % содержание вызывает повышение растворимости силибинина в 28 раз в воде и в 9 раз в буферном растворе (pH 7,4). Использование более высоких концентраций F127 (напр., 10 мас. %) оказалось затруднительным из-за способности этого полимера к гелеобразованию. Мы считаем, что силибинин встраивается в мицеллы плуроника F127 таким образом, что более гидрофобная часть его молекулы находится в ядре мицеллы, а гидрофильная – во внешней сфере мицеллы, и это способствует улучшению растворимости в водной среде. Менее выраженный солюбилизирующий эффект F127 в фосфатном буферном растворе обусловлен ионизацией силибинина. Как мы предполагаем, включение анионной формы силибинина в гидрофобное ядро мицеллы F127 менее предпочтительно по сравнению с неионизированной формой.

Другое рассматриваемое в данной работе поверхностно-активное вещество, ДСН, проявляет менее выраженное солюбилизирующее действие в сравнении с F127. Добавление ДСН (10 мас. %) приводит к росту растворимости силибинина в 8,5 и 7,5 раз в воде и фосфатном буфере, соответственно. Вероятно, взаимодействия силибинина с анионными мицеллами ДСН являются менее энергетически выгодными по сравнению с мицеллами амфифильного плуроника.

В присутствии ГП-β-ЦД (10 мас. %) растворимость силибинина возрастает в 14 раз в воде и в 9 раз в буферном растворе pH 7,4. Данный эффект объясним комплексообразованием силибинина с ГП-β-ЦД. Как свидетельствуют литературные данные [49], силибинин способен включаться в полость ГП-β-ЦД, при этом два конденсированных бензольных кольца проникают в макроциклическую полость, а оставшийся фрагмент молекулы располагается снаружи и взаимодействует с внешними ОН-группами ГП-β-ЦД. По всей видимости, водорастворимый комплекс включения образуется за счет вандерваальсовых сил, гидрофобных взаимодействий и водородных связей между гидроксильными группами силибинина и ГП-β-ЦД. В фосфатном буферном растворе (pH 7,4) комплексообразование затруднено, поскольку включение

ионизированного фрагмента молекулы силибинина в макроциклическую полость ГП-β-ЦД менее предпочтительно, что приводит к ослаблению сольобилизации силибинина циклодекстрином при рН 7,4 (рис. 1).

Сольобилизирующее действие ПВП обусловлено способностью этого полимера образовывать водородные связи с лекарственным соединением. Как известно, ПВП способен за счет карбонильной группы действовать в качестве акцептора при образовании водородной связи, что приводит к возникновению достаточно сильных стабилизирующих взаимодействий с лекарственными средствами [50].

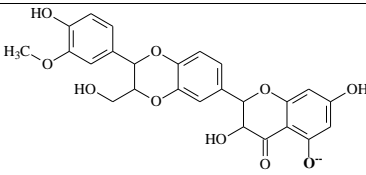
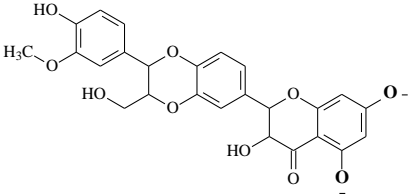
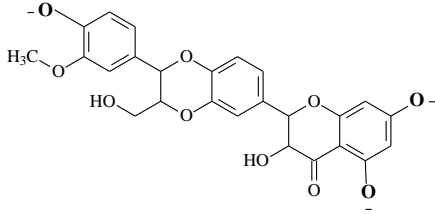
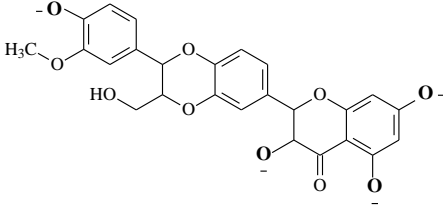
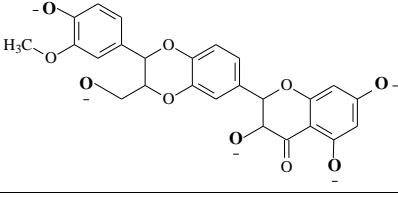
Таким образом, проведенное исследование показало, что наиболее эффективное повышение растворимости силибинина происходит за счет

проникновения молекул лекарственного соединения в мицеллы неионогенных ПАВ и образования комплексов включения с циклодекстринами.

Поскольку большинство лекарственных средств предназначено для перорального применения, в данной работе методом механоактивации была получена твердая дисперсия силибинина с ГП-β-ЦД. Из-за низкой температуры плавления (57-60 °С [51, 52]) плуроник F127 оказался менее подходящим вспомогательным веществом для механохимической обработки. Кажущаяся растворимость силибинина была определена при растворении твердой дисперсии с ГП-β-ЦД в воде и в фосфатном буферном растворе (рН 7,4) при температуре 25 °С (рис. 3). Для сравнения рассматривалась соответствующая физическая смесь силибинина с ГП-β-ЦД. Содержание силибинина в образцах составляло 10 мас. %.

Таблица

Константы диссоциации силибинина
Table. Dissociation constants of silibinin

Стадия		pK _a
$H_5L \rightarrow H_4L^- + H^+$		7,87
$H_4L^- \rightarrow H_3L^{2-} + H^+$		8,84
$H_3L^{2-} \rightarrow H_2L^{3-} + H^+$		9,65
$H_2L^{3-} \rightarrow HL^{4-} + H^+$		12,57
$HL^{4-} \rightarrow L^{5-} + H^+$		13,87

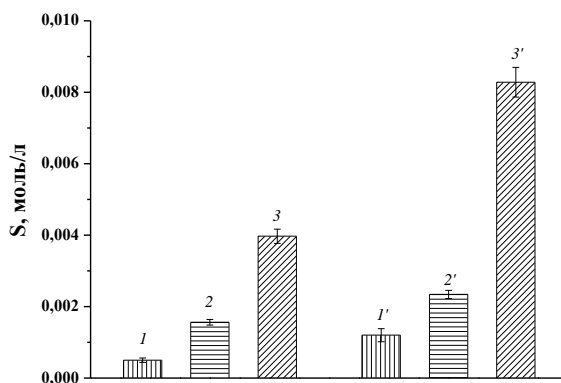


Рис. 3. Растворимость при 25 °С: 1 – чистого СЛБ в воде; 1' – чистого СЛБ в буферном растворе рН=7,4; 2 – физической смеси СЛБ+ГП-β-ЦД в воде; 2' – физической смеси СЛБ+ГП-β-ЦД в буферном растворе (рН=7,4); 3 – твердой дисперсии СЛБ/ГП-β-ЦД в воде; 3' – твердой дисперсии СЛБ/ГП-β-ЦД в буферном растворе (рН=7,4)

Fig. 3. Solubility at 25 °C: 1 - pure SLB in water; 1' - pure SLB in buffer solution pH = 7.4; 2 - physical mixture SLB+HP-β-CD in water; 2' - physical mixture SLB+HP-β-CD in a buffer solution (pH = 7.4); 3 - solid dispersion SLB/HP-β-CD in water; 3' - solid dispersion SLB/HP-β-CD in a buffer solution (pH=7.4)

Анализ полученных данных (рис. 3) показывает, что повышение растворимости твердой дисперсии более существенное по сравнению с физической смесью ее компонентов. Это указывает на то, что комплексообразование с циклодекстрином в растворе не является основным фактором, контролирующим повышение растворимости. Дополнительный вклад возникает от аморфизации лекарственного вещества в ходе механохимической обработки и за счет взаимодействий с ГП-β-ЦД в твердом состоянии. Данный результат может быть полезен при разработке композиций твердых лекарственных форм.

Как правило, не только растворимость лекарственного соединения определяет биодоступность препарата. Способность лекарственного соединения проникать через мембраны является вторым по значимости параметром, от которого зависит биодоступность – степень проникновения активного фармацевтического ингредиента из ЖКТ в системный кровоток при пероральном применении [53].

Нами была исследована мембранная проницаемость силибинина в присутствии рассматриваемых солюбилизаторов (ПВП, F127, ДСН, ГП-β-ЦД). Использование в экспериментах модельной целлюлозной мембраны MWCO 12000 подразумевает, что через нее не проходят соединения с молекулярной массой выше 12 кДа. На рис. 4 представлены значения кажущихся коэффициентов проницаемости силибинина. Как видно, коэффициенты проницаемости силибинина уменьшаются в 1,5-2 раза при добавлении солюбилизаторов (1 мас.%).

Однако эффект всех рассматриваемых солюбилизаторов на величину P_{app} примерно одинаковый и не зависит от их природы и состояния в растворе. Как правило, изменение P_{app} обусловлено несколькими факторами. Это, прежде всего, межчастичные взаимодействия, происходящие в растворе между молекулами лекарственного соединения и солюбилизатора, и вязкость среды. Из рассматриваемых систем ПВП, мицеллы плуроника F127 и ДСН не способны проникать через мембрану, поэтому силибинин, взаимодействующий с этими солюбилизаторами, остается в донорной камере. Это вызывает ослабление концентрационного градиента и уменьшение коэффициентов проницаемости. Несколько более выраженное уменьшение P_{app} , наблюдающееся для мицеллярных систем с плуроником и ДСН, обусловлено повышением вязкости растворов, что приводит, в соответствии с выражением Стокса-Эйнштейна, к дополнительному вкладу в уменьшение коэффициентов диффузии и движению силибинина к поверхности мембраны.

Напротив, ГП-β-ЦД и его комплексы включения с силибинином способны проходить через используемую мембрану, и уменьшение P_{app} в этом случае вызвано понижением коэффициента диффузии силибинина за счет увеличения размера его частиц при образовании комплексов включения с циклодекстрином.

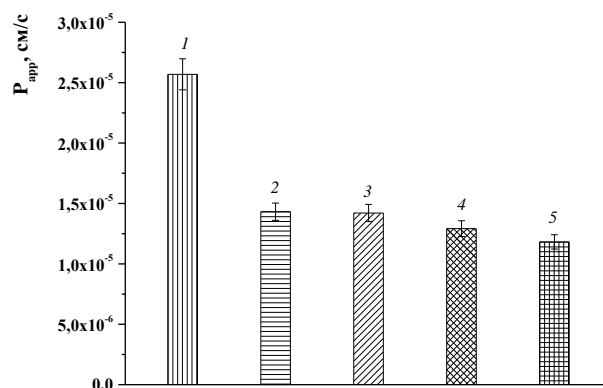


Рис. 4. Кажущиеся коэффициенты проницаемости СЛБ (1), СЛБ+ПВП (1 масс.%) (2), СЛБ+ГП-β-ЦД (1 масс.%) (3), СЛБ+F127 (1 масс.%) (4), СЛБ+ДСН (1 масс.%) (5) в фосфатном буферном растворе (рН=7,4) при температуре 37 °С

Fig. 4. Apparent permeability coefficients of SLB (1), SLB+PVP (1 wt%) (2), SLB+HP-β-CD (1 wt%) (3), SLB+F127 (1 wt%) (4), SLB+SDS (1 wt%) (5) in phosphate buffer solution (pH = 7.4) at 37 °C

ВЫВОДЫ

Таким образом, биодоступность силибинина может быть повышена за счет улучшения его растворимости в водной среде при использовании различных классов солюбилизаторов. Циклодекстрины и

пльороники проявляют наиболее сильно выраженное солюбилизирующее действие по отношению к силибинину, обусловленное, соответственно, образованием водорастворимых комплексов включения и проникновением лекарственного соединения в мицеллы ПАВ. При разработке водорастворимых лекарственных форм необходимо учитывать влияние солюбилизатора на мембранную проницаемость фармакологически активного ингредиента.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (по темам АААА-А21-121011590021-1 и АААА-А21-121011490059-5).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (for topics АААА-А21-121011590021-1 and АААА-А21-121011490059-5).

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. **Parveen R., Baboota S., Ali J., Ahuja A.** Effects of silymarin nanoemulsion against carbon tetrachloride-induced hepatic damage. *Arch. Pharm. Res.* 2011. V. 34. P. 767-774. DOI: 10.1007/s12272-011-0510-8.
2. **Shakeel F., Anwer M.K., Shazly G.A., Jamil S.** Measurement and correlation of solubility of bioactive compound silymarin in five different green solvents at 298.15K to 333.15K. *J. Molec. Liq.* 2014. V. 195. P. 255-258. DOI: 10.1016/j.molliq.2014.02.039.
3. **Zholobenko A., Modriansky M.** Silymarin and its constituents in cardiac preconditioning. *Fitoterapia.* 2014. V. 97. P. 122-132. DOI: 10.1016/j.fitote.2014.05.016.
4. **Gažák R., Marhol P., Purchartová K., Monti D.** Large-scale separation of silybin diastereoisomers using lipases. *Proc. Biochem.* 2010. V. 45(10). P. 1657-1663. DOI: 10.1016/j.procbio.2010.06.019.
5. **Ahmad N., Fazal H., Abbasi B.H., Anwar S., Basir A.** DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Indust. Health.* 2012. V. 29(5). P. 460-467. DOI: 10.1177/0748233712436637.
6. **Abrol S., Trehan A., Katare O.P.** Formulation, characterization, and in vitro evaluation of silymarin-laded lipid microspheres. *Drug Delivery.* 2004. V. 11(3). P. 185-191. DOI: 10.1080/10717540490433958.
7. **Woo J.S., Kim T.S., Park J.H., Chi S.C.** Formulation and biopharmaceutical evaluation of silymarin using SMEDDS. *Arch. Pharm. Res.* 2007. V. 30. P. 82-89. DOI: 10.1007/BF02977782.
8. **Sudha N., Chandrasekaran S.** Capping of silybin with β -cyclodextrin influences its binding with bovine serum albumin: A study by fluorescence spectroscopy and molecular modeling. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2014. V. 35. P. 2114-2122. DOI: 10.5012/bkcs.2014.35.7.2114.
9. **Gopalakrishnan R., Sundaram J., Sattu K., Pandi A., Thiruvengadam D.** Dietary supplementation of silymarin is associated with decreased cell proliferation, increased apoptosis, and activation of detoxification system in hepatocellular carcinoma. *Molec. Cellular Biochem.* 2013. V. 377(1-2). P. 163-176. DOI: 10.1007/s11010-013-1582-1.
10. **Hädärugä, D.I., Hädärugä, N.G.** Antioxidant activity of hepatoprotective silymarin and *Silybum marianum* L. extract. *Chem. Bull. Polytech. Univ. Timișoara.* 2009. V. 54(2). P. 104-107.
11. **Gopalakrishnan R., Sundaram J., Sattu K.** Dietary supplementation of silymarin is associated with decreased cell proliferation, increased apoptosis, and activation of detoxification system in hepatocellular carcinoma. *Molec. Cellular Biochem.* 2013. V. 377. P. 163-176. DOI: 10.1007/s11010-013-1582-1.
12. **Lee J.S., Hong D.Y., Kim E.S., Lee H.G.** Improving the water solubility and antimicrobial activity of silymarin by nanoencapsulation. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 2017. V. 154. P. 171-177. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.03.004.
13. **Ansari M.** Investigations of polyethylene glycol mediated ternary molecular inclusion complexes of silymarin with beta cyclodextrins. *J. Appl. Pharmaceut. Sci.* 2015. V. 5. P. 26-31. DOI: 10.7324/JAPS.2015.50905.
14. **Kuen C., Fakurazi S., Othman S., Masarudin M.** Increased loading, efficacy and sustained release of silibinin, a poorly soluble drug using hydrophobically-modified chitosan nanoparticles for enhanced delivery of anticancer drug delivery systems. *Nanomaterials.* 2017. V. 7(11). P. 379. DOI: 10.3390/nano7110379.
15. **Wu W., Wang L., Wang S.** Amorphous silibinin nanoparticles loaded into porous starch to enhance remarkably its solubility and bioavailability in vivo. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 2020. P. 111474. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.111474.
16. **Schramm S., Gunesch S., Lang F., Saedtler M., Meinel L., Hogger P., Decker M.** Investigations into neuroprotectivity, stability, and water solubility of 7-O-cinnamoylsilibinin, its hemisuccinate and dehydro derivatives. *Archiv Pharmazie.* 2018. V. 351(11). P. 1800206. DOI: 10.1002/ardp.201800206.
17. **Deep G., Agarwal R.** Antimetastatic efficacy of silibinin: molecular mechanisms and therapeutic potential against cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2010. V. 29(3). P. 447-463. DOI: 10.1007/s10555-010-9237-0.
18. **Yousaf A. M., Malik U. R., Shahzad Y., Mahmood T., Hussain T.** Silymarin-laden PVP-PEG polymeric composite for enhanced aqueous solubility and dissolution rate: Preparation and in vitro characterization. *J. Pharmaceut. Analysis.* 2018. V. 9. P. 34-39. DOI: 10.1016/j.jpha.2018.09.003.
19. **Rabinow B.E.** Nanosuspensions in drug delivery. *Nature Rev. Drug Discovery.* 2004. V. 3. P. 785-796. DOI: 10.1038/nrd1494.
20. **Gao L., Liu G., Ma J., Wang X., Zhou L., Li X.** Drug nanocrystals: In vivo performances. *J. Control. Rel.* 2012. V. 160(3). P. 418-430. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.03.013.
21. **Kalepu S., Nekkanti V.** Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. *Acta Pharm. Sinica B.* 2015. V. 5. P. 442-453. DOI: 10.1016/j.apsb.2015.07.003.
22. **Basavaraj S., Betageri G.V.** Can formulation and drug delivery reduce attrition during drug discovery and development-review of feasibility, benefits and challenges? *Acta Pharm. Sinica B.* 2014. V. 4. P. 3-17. DOI: 10.1016/j.apsb.2013.12.003.
23. **Desai P.P., Date A.A., Patravale V.B.** Overcoming poor oral bioavailability using nanoparticle formulations: opportunities and limitations. *Drug Discovery Today: Technol.* 2012. V. 9(2). P. 87-95. DOI: 10.1016/j.ddtec.2011.12.001.
24. **Huang Y., Dai W.G.** Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. *Acta Pharm. Sinica B.* 2014. V. 4(1). P. 18-25. DOI: 10.1016/j.apsb.2013.11.001.
25. **Vo C.L.N., Park C., Lee B.J.** Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013. V. 85(3). P. 799-813. DOI: 10.1016/j.ejpb.2013.09.007.

26. **Good D.J., Rodríguez-Hornedo N.** Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. *Crystal Growth Design*. 2009. V. 9(5). P. 2252-2264. DOI: 10.1021/cg801039j.
27. **Elder D.P., Holm R., Diego H.L.** Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *Int. J. Pharm.* 2013. V. 453(1). P. 88-100. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.11.028.
28. **Surov A. O.** Ciprofloxacin salts with benzoic acid derivatives: structural aspects, solid-state properties and solubility performance. *Cryst. Eng. Comm.* 2020. V. 22. N 25. P. 4238-4249. DOI: 10.1039/D0CE00514B.
29. **Semalty A.** Cyclodextrin and phospholipid complexation in solubility and dissolution enhancement: a critical and meta-analysis. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2014. V. 11(8). P. 1255-1272. DOI: 10.1517/17425247.2014.916271.
30. **Brewster M.E., Loftsson T.** Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2007. V. 59(7). P. 645-666. DOI: 10.1016/j.addr.2007.05.012.
31. **Wang Y., Zhang D., Liu Z., Liu G., Duan C., Jia L., Zhang Q.** In vitro and in vivo evaluation of silybin nanosuspensions for oral and intravenous delivery. *Nanotechnology*. 2010. V. 21(15). P. 155104. DOI: 10.1088/0957-4484/21/15/155104.
32. **Flaig T.W., Glodé M., Gustafson D., Bokhoven A., Tao Y., Wilson S., Pollak M.** A study of high-dose oral silybin-phytosome followed by prostatectomy in patients with localized prostate cancer. *Prostate*. 2010. V. 70. P. 848-855. DOI: 10.1002/pros.21118.
33. **Khan F., Sheikh M.S., Rub M.A., Azum N., Asiri A.M.** Anti-depressant drug amitriptyline hydrochloride (AMT) interaction with anionic surfactant sodium dodecyl sulfate in aqueous/brine/urea solutions at different temperatures. *J. Molec. Liq.* 2016. V. 222. P. 1020-1030. DOI: 10.1016/j.molliq.2016.07.104.
34. **Agafonov M., Volkova T., Kumeev R., Chibunova E., Terekhova I.** Impact of Pluronic F127 on aqueous solubility and membrane permeability of antirheumatic compounds of different structure and polarity. *J. Molec. Liq.* 2019. V. 274. P. 770-777. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.11.060.
35. **Lian R., Lu Y., Qi J., Tan Y., Niu M., Guan P., Wu W.** Silymarin glyceryl monooleate/Pluronic 407 liquid crystalline matrices: Physical characterization and enhanced oral bioavailability. *AAPS Pharm. Sci. Technol.* 2011. V. 12(4). P. 1234-1240. DOI: 10.1208/s12249-011-9666-2.
36. **Tung N.-T., Tran C.-S., Nguyen H.-A., Nguyen T.-D., Chi S.-C., Pham D.-V., Ho X.-H.** Formulation and biopharmaceutical evaluation of supersaturatable self-nanoemulsifying drug delivery systems containing silymarin. *Int. J. Pharmaceut.* 2019. V. 553. P. 63-76. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.11.036.
37. **Jansook P., Kurkov S.V., Loftsson T.** Cyclodextrins as solubilizers: Formation of complex aggregates. *J. Pharm. Sci.* 2010. V. 99. P. 719-729. DOI: 10.1002/jps.21861.
38. **Ghosh A., Biswas S., Ghosh T.** Preparation and evaluation of silymarin β -cyclodextrin molecular inclusion complexes. *J. Young Pharm.* 2011. V. 3. P. 205-210. DOI: 10.4103/0975-1483.83759.
39. **Hädärugä D.I., Hädärugä N.G., Bandur G.N., Isengard H.D.** Water content of flavonoid/cyclodextrin nanoparticles: Relationship with the structural descriptors of biologically active compounds. *Food Chem.* 2012. V. 132(4). P. 1651-1659. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.06.004.
40. **Voinovich D., Perissutti B., Grassi M., Passerini N., Bigotto A.** Solid state mechanochemical activation of Silybum marianum dry extract with betacyclodextrins: characterization and bioavailability of the coground systems. *J. Pharm. Sci.* 2009. V. 98(11). P. 4119-29. DOI: 10.1002/jps.21704.
41. **Wu W., Zu Y., Wang L., Wang L., Li Y., Liu Y., Zhang X.** Preparation, characterization and antitumor activity evaluation of silibinin nanoparticles for oral delivery through liquid antisolvent precipitation. *RSC Adv.* 2017. N 7(86). P. 54379-54390. DOI: 10.1039/C7RA10242A.
42. **Shekhawat P., Pokharkar V.** Understanding peroral absorption: regulatory aspects and contemporary approaches to tackling solubility and permeability hurdles. *Acta Pharm. Sinica B.* 2017. V. 7(3). P. 260-280. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.09.005.
43. **Arcari M., Brambilla A., Brandt A., Caponi R., Corsi G., Di Rella M., Solinas F., Wachter W.P.** A new inclusion complex of silibinin and beta-cyclodextrins: in vitro dissolution kinetics and in vivo absorption in comparison with traditional formulations. *Bollettino Chimico Farmaceutico*. 1992. V. 131. P. 205-209.
44. **Sun N., Wei X., Wu B., Chen J., Lu Y., Wu W.** Enhanced dissolution of silymarin/polyvinylpyrrolidone solid dispersion pellets prepared by a one-step fluid-bed coating technique. *Powder Technol.* 2008. V. 182(1). P. 72-80. DOI: 10.1016/j.powtec.2007.05.029.
45. **Knop K.** Poly(ethylene glycol) in drug delivery: Pros and cons as well as potential alternatives. *Angew. Chem. Internat. Ed.* 2010. V. 36. P. 6288-6308. DOI: 10.1002/anie.200902672.
46. **Beig A., Miller J.M., Dahan A.** Accounting for the solubility-permeability interplay in oral formulation development for poor water solubility drugs: The effect of PEG400 on carbamazepine absorption. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2012. V. 81. P. 386-391. DOI: 10.1016/j.ejpb.2012.02.012.
47. **Romanucci V., Agarwal C., Agarwal R., Pannecouque C., Iuliano M., De Tommaso G., Zarrelli A.** Silibinin phosphodiester glyco-conjugates: Synthesis, redox behaviour and biological investigations. *Bioorg. Chem.* 2018. V. 77. P. 349-359. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.01.026.
48. **Vasil'ev V.P., Borodin V.A., Kozlovskiy E.V.** The use of computers in chemical analytical calculations. М.: Vyssh. shk. 1993. 112 p. **Васильев В.П., Бородин В.А., Козловский Е.В.** Применение ЭВМ в химико-аналитических расчетах. М.: Высшая шк. 1993. 112 с.
49. **Kellici T. F., Ntountaniotis D., Leonis G., Chatziathanasiadou M., Chatzikonstantinou A.V., Becker-Baldus J., Mavroustakos T.** Investigation of the Interactions of Silibinin with 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin through Biophysical Techniques and Computational Methods. *Molec. Pharm.* 2015. V. 12(3). P. 954-965. DOI: 10.1021/mp5008053.
50. **Kurakula M., Rao G.S.N.K.** Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020. V. 60. P. 102046. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.102046.
51. **Agafonov M., Ivanov S., Terekhova I.** Improvement of pharmacologically relevant properties of methotrexate by solid dispersion with Pluronic F127. *Mater. Sci. Eng. C*. 2021. V. 124. P. 112059. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112059.
52. **Yurtdaş-Kırmlıoğlu G.** A promising approach to design thermosensitive in situ gel based on solid dispersions of desloratadine with Kolliphor® 188 and Pluronic® F127. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2021. P. 1307-1327. DOI: 10.1007/s10973-020-10460-0.
53. **Melnikova N.B., Solovyova O.N., Kochetkov E.N.** Biomimetic approaches to study of properties of medicinal substances. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2019. V. 62. N 10. P. 4-29. DOI: 10.6060/ivkkt.20196210.5917. **Мельникова Н.Б., Соловьева О.Н., Кочетков Е.Н.** Биомиметические подходы к исследованию свойств лекарственных веществ. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2019. Т. 62. Вып. 10. С. 4-29. DOI: 10.6060/ivkkt.20196210.5917.

Поступила в редакцию (Receive) 25.10.2021

Принята к опубликованию (Accepted) 20.01.2022