

УДК 615.322

DOI: 10.15372/ChUR2019125

Исследование растворимости и мембранной проницаемости механохимически полученных твердых дисперсий растительных флавоноидов

Л. П. СУНЦОВА¹, А. А. ШЛОТГАУЭР², В. И. ЕВСЕЕНКО¹, Е. С. МЕТЕЛЕВА¹, Н. Э. ПОЛЯКОВ^{1,2}, А. В. ДУШКИН¹¹Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН, Новосибирск (Россия)E-mail: suntcovalp@mail.ru²Институт химической кинетики и горения Сибирского отделения РАН, Новосибирск (Россия)

(Поступила 28.12.18)

Аннотация

Механохимическим путем получены твердые дисперсии растительных флавоноидов (дигидрокверцетина, пуэарина, рутина и генистеина) с полисахаридом арабиногалактаном и динатриевой солью глицирризиновой кислоты. Исследованы пути повышения их растворимости и трансмембранной проницаемости на искусственных мембранах. Методом ЯМР-релаксации установлено образование супрамолекулярных систем – межмолекулярных комплексов и мицелл – при растворении твердых дисперсий в воде, оценены их константы стабильности и термодинамические параметры. Показана возможность увеличения растворимости исследуемых флавоноидов в 1.9–30 раз. Выявлено, что измеренная скорость трансмембранного переноса молекул флавоноидов через искусственную гидрофобную мембрану не коррелирует с увеличением их растворимости. Предположено, что это связано с особенностями строения комплексов, а также спецификой самих молекул флавоноидов. Полученные результаты качественно близки к имеющимся данным по биодоступности и трансмембранному переносу *in vivo*.

Ключевые слова: флавоноиды, механохимическая обработка, растворимость, мембранная проницаемость, супрамолекулярные комплексы, мицеллы

ВВЕДЕНИЕ

Флавоноиды – наиболее многочисленный класс природных фенольных соединений, для которых характерно структурное многообразие, высокая и разносторонняя биологическая активность и малая токсичность [1]. Известно, что дигидрокверцетин (ДГК), рутин, генистеин и пуэарин, относящиеся к классам флавонов и изофлавонов, демонстрируют широкий спектр биологического действия: проявляют антиоксидантную, цитопротекторную, вазопротекторную, антиканцерогенную и кардиопротекторную активности [2], снижают риск сердечно-сосудистых заболеваний [3–7] и используются в парафармацевтических и фармацевтических препаратах. Однако потенциал практического

применения в составе твердых лекарственных форм ограничен в связи с их низкой растворимостью и биодоступностью [8]. Важным направлением в исследовании флавоноидов является создание комплексных препаратов на их основе.

Известно [9], что для твердых лекарственных форм при оральном применении биодоступность определяется водорастворимостью активного фармацевтического ингредиента и скоростью его абсорбции в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Парафармацевтические препараты по своему назначению близки к лекарственным средствам, поэтому в их производстве используют традиционные фармацевтические технологии. Для решения проблемы низкой растворимости лекарственных веществ (ЛВ) существует ряд подходов: уменьшение разме-

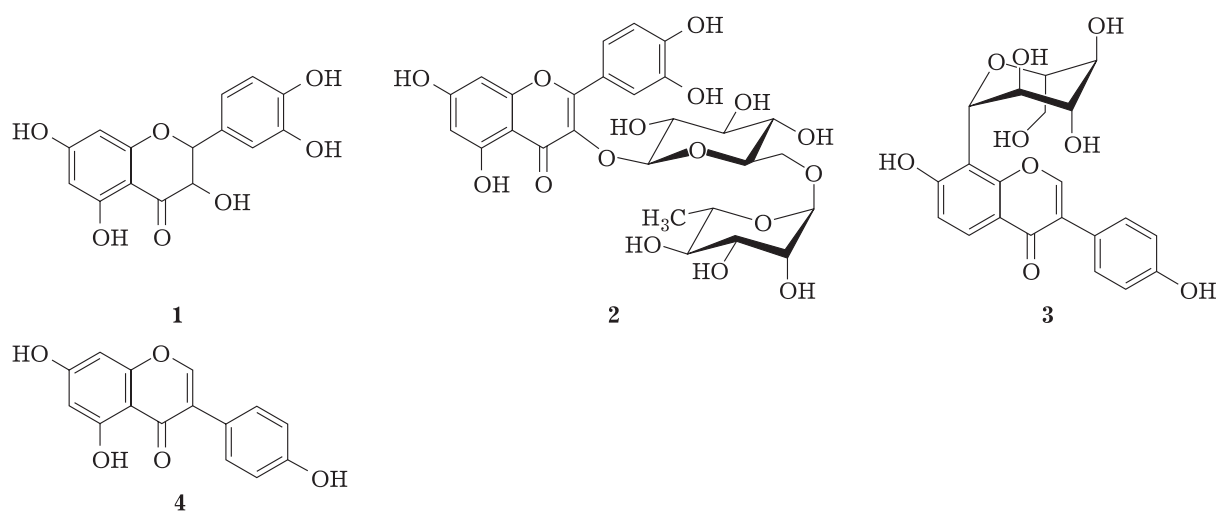


Рис. 1. Структурные формулы флавоноидов: 1 – дигидрокверцетин; 2 – рутин; 3 – пуэарин; 4 – генистеин.

ров частиц (микронизация), модификация кристаллической структуры (полиморфные превращения), образование со-кристаллов, образование водорастворимых солей, ионизация молекул ЛВ (изменение pH), получение дисперсий ЛВ с наполнителями (эвтектические смеси, твердые дисперсии (ТД), твердые растворы) и др. [10–12].

Ранее в наших работах было показано улучшение солюбилизационных характеристик ЛВ, в том числе части из исследованных в настоящей статье флавоноидов, за счет получения их ТД со специально подобранными водорастворимыми вспомогательными веществами путем совместной механохимической обработки в шаровых мельницах [13–16].

Не менее важными факторами, влияющими на эффективность действия твердых оральных форм, являются скорость и степень абсорбции биологически активных веществ (БАВ) в кровоток через стенки ЖКТ. Мерой такой абсорбции служит величина биодоступности БАВ, рассчитываемая из фармакокинетических параметров. В случае изучаемых нами флавоноидов, по имеющимся данным [8], эта величина оценивается в 2–20 % от теоретического значения. Соответственно, только малая часть этих веществ проникает в системный кровоток и оказывает ожидаемое биологическое/фармакологическое действие. Отсюда следует актуальность изучения факторов повышения величины биодоступности БАВ.

В настоящей работе исследованы пути повышения растворимости и мембранной проницаемости молекул флавоноидов (рис. 1) за счет их включения в супрамолекулярные системы – соединения типа “гость – хозяин” и мицеллы. В качестве комплексообразующих агентов использовали полисахарид арабиногалактан (АГ) и про-

изводное глицирризиновой кислоты (ГК) – ее динатриевую соль ($\text{Na}_2\text{ГК}$) [17]. Арабиногалактан представляет собой высоко разветвленный полисахарид, выделяемый из древесины лиственницы. Его структура может способствовать включению небольших молекул БАВ в пространство между боковыми цепями макромолекулы. Глицирризиновая кислота – водорастворимый сапонин, выделяемый из корня солодки. Ее молекулы амфифильны и в растворах способны к самоассоциации – мицеллообразованию [17, 18]. При этом молекулы флавоноидов могут находиться как во внутренней части образовавшейся мицеллы, так и на внешней поверхности самоассоциата.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Твердые дисперсии получали на основе субстанций флавоноидов: ДГК (ООО ИНПФ “Химия древесины”, Россия); рутин (Qingdao Samin Chemical Co., Ltd, КНР); пуэарин (Shaanxi Pioneer Biotech Co., Ltd, КНР); генистеин (Sigma-Aldrich). В качестве комплексообразующих агентов (вспомогательных веществ) использовали: АГ, полученный из древесины лиственницы даурской (ЗАО “Аметис”, Россия, ТУ 9325-008-70692152-08) и $\text{Na}_2\text{ГК}$ (Shaanxi Pioneer Biotech Co., Ltd, КНР).

Синтез твердых дисперсий

Синтез ТД осуществляли с помощью твердофазной механохимической технологии. Процесс механохимической обработки смеси субстанции флавоноида со вспомогательным веществом проводили в шаровой ротационной мельнице по

процедуре, описанной в [15]. Массовое соотношение флавоноид/вспомогательное вещество составляло 1 : 10.

Методы исследования

Концентрацию рутина и генистеина в растворах определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent 1200 по методике, приведенной в [15]. В качестве элюента использовали ацетатный буфер (рН 3.4)/ацетонитрил, объемное соотношение 55 : 45 для генистеина, 80 : 20 для рутина.

Концентрацию ДГК и пуэарина в растворах определяли с помощью ВЭЖХ на микроколонном хроматографе "Милихром А-02", оборудованном УФ-детектором, с использованием "обращенного" сорбента RP-18. Температура колонки +35 °С. Для анализа растворов ДГК подвижная фаза состояла из 4 М LiClO₄ с 0.1 М HClO₄/ацетонитрил в объемном соотношении 70 : 30. Для анализа растворов пуэарина использовали элюент 0.1 % цитрат натрия/ацетонитрил в объемном соотношении 80 : 20.

Определение растворимости субстанций флавоноидов и их комплексов проводили по методике, описанной в [14]. Навеска образца соответствовала массе, необходимой для достижения расчетной концентрации генистеина – 0.5 г/л, рутина – 2 г/л, дигидрокверцетина – 5 г/л, пуэарина – 10 г/л.

Образование межмолекулярных комплексов в водных растворах D₂O подтверждено методом ¹H динамической ЯМР-спектроскопии на спектрометре Bruker AVANCE III 500 (Германия) на

частоте 500 МГц при 30 и 50 °С. Измерение времен фазовой релаксации T_φ проводилось с использованием стандартной последовательности Кара – Парсела – Мебума – Гилла (CPMG) вида P₁(90°) – (τ – P₂(180°) – τ)n где P₁, P₂ – радиочастотные импульсы при угле поворота 90° и 180° соответственно; τ – фиксированная временная задержка, равная 0.5 мс; n – количество циклов, изменяющееся в диапазоне от 0 до 2000. По полученным данным проведена оценка констант стабильности комплексов и основных термодинамических параметров комплексообразования.

Мембранную проницаемость флавоноидов *in vitro* определяли с помощью модели РАМРА (parallel artificial membrane permeability assay – модель проникновения через искусственные мембраны). Исследование проводили на искусственных мембранах, сформированных на основе гексадекана по методике, описанной в [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование растворимости

Показатели растворимости субстанций флавоноидов и их ТД приведены в табл. 1. Во всех случаях наблюдается повышение растворимости, значение которого (от 1.9 до 30 раз) зависит от природы комплексообразующего вещества и способа приготовления композиций. Из данных табл. 1 видно, что в комплексах с Na₂ГК достигаются большие значения растворимости, чем в комплексах с АГ. В зависимости от способа получения комплекса (механохимического или фи-

ТАБЛИЦА 1

Показатели растворимости субстанций флавоноидов и их комплексов со вспомогательными веществами, полученных путем физического смешивания и механической обработки

Флавоноид-ВВ (массовое соотношение)	C _{физ} , г/л (n)	C _{м/о} , г/л (n)
Субстанция ДГК	2.1	
ДГК-АГ (1 : 10)	2.1 (1)	3.5 (1.7)
ДГК-Na ₂ ГК (1 : 10)	4.4 (2.1)	4.5 (2.1)
Субстанция рутина	0.052	
Рутин-АГ (1 : 10)	0.052 (1)	0.099 (1.9)
Рутин-Na ₂ ГК (1 : 10)	0.904 (17)	1.1 (21)
Субстанция пуэарина	4.3	
Пуэарин-АГ (1 : 10)	5.0 (1.2)	5.3 (1.2)
Пуэарин-Na ₂ ГК (1 : 10)	9.1 (2.1)	9.0 (2.1)
Субстанция генистеина	0.005	
Генистеин-АГ (1 : 10)	0.005 (1)	0.014 (2.8)
Генистеин-Na ₂ ГК (1 : 10)	0.010 (2)	0.150 (30)

Примечание. C_{физ}, C_{м/о} – растворимость комплексов, полученных путем физического смешивания и механической обработки соответственно; n – повышение растворимости, разы.

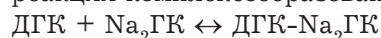
зического смешивания) значения растворимости имеют сравнимые величины. Исключение составляет комплекс генистеина с $\text{Na}_2\text{ГК}$: для физической смеси растворимость $S_{\text{физ}}$ повысилась в два раза, а для комплекса, полученного путем механической обработки, растворимость $S_{\text{м/о}}$ возросла в 30 раз. Наблюдаемый эффект, вероятно, связан с крайне низкой растворимостью субстанции генистеина и характерен для ряда других ранее исследованных веществ [17].

Исследование образования комплексов в водных растворах

Субстанции флавоноидов, обладающие наибольшей растворимостью (ДГК и пуэарин), демонстрируют незначительные изменения в растворимости в присутствии комплексообразователей. Для подтверждения образования межмолекулярных комплексов этих флавоноидов с АГ и $\text{Na}_2\text{ГК}$ в водных растворах использовали хорошо зарекомендовавший себя ранее метод ЯМР-релаксации [19–21]. Известно, что времена спин-спиновой релаксации магнитных ядер молекул в растворе очень чувствительны к межмолекулярному взаимодействию и к диффузионной подвижности молекул [22]. Это обусловлено изменением времени вращательной переориентации молекул τ_c в комплексе, которое оценивается по формуле Стокса – Эйнштейна – Дебая: $\tau_c = 4\pi a^3\eta/(3kT)$, где a – размер молекул, η – вязкость, T – температура, k – постоянная Больцмана. При попадании молекулы внутрь комплекса времена релаксации протонов существенно сокращаются в результате замедления диффузионной и вращательной подвижности.

В работе измерялись времена релаксации ароматических протонов ДГК и пуэарина (см. рис. 1) в водных растворах ТД с АГ и $\text{Na}_2\text{ГК}$, а также в растворах исходных субстанций. Во всех ТД наблюдалось уменьшение T_ϕ по сравнению со свободной молекулой. Так, например, для комплекса ДГК- $\text{Na}_2\text{ГК}$ в соотношении 1 : 10 наблюдалось сокращение T_ϕ с 1.4 с для свободной молекулы до 0.58 с для ДГК в комплексе при температуре 30 °С (рис. 2).

Последовательное разбавление раствора ТД приводит к увеличению наблюдаемого времени релаксации, что является следствием смещения равновесия в сторону свободных молекул ДГК в реакции комплексообразования:



Путем построения зависимости времени релаксации протонов ДГК от концентрации ГК в координатах Бенеси – Хилдебранта оценена стехиометрия n и константа стабильности комплекса K :

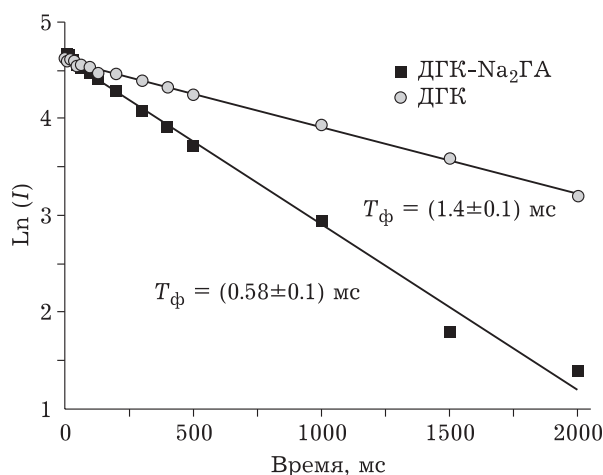


Рис. 2. Зависимости интенсивности сигнала эха I в эксперименте СPMG (в логарифмическом масштабе) ароматических протонов ДГК от времени в водном растворе ДГК (0.4 мМ) и в растворе комплекса ДГК- $\text{Na}_2\text{ГК}$ (1 : 10, концентрация ГК 3 мМ) при температуре 30 °С, рН 6.2. Точки – эксперимент, сплошные линии – расчет.

$$\frac{\Delta_{\text{max}}}{\Delta} - 1 = 1/(K[\text{Na}_2\text{ГК}]^n) \quad (1)$$

Здесь Δ и Δ_{max} – наблюдаемое и максимальное изменения скорости релаксации протонов ДГК относительно свободной молекулы: $\Delta = 1/T_\phi(\text{набл.}) - 1/T_\phi(\text{своб.})$. Построение концентрационной зависимости в координатах $\Delta_{\text{max}}/\Delta$ от $1/[\text{Na}_2\text{ГК}]^n$ позволяет рассчитать значения n и K из наклона прямой. Экспериментальные точки хорошо описываются прямой при $n = 1$, что указывает на стехиометрию комплекса 1 : 1. Из наклона прямой можно оценить константы стабильности комплекса ДГК- $\text{Na}_2\text{ГК}$ при разных температурах: $K(30) = (125 \pm 20) \text{ M}^{-1}$ и $K(50) = (340 \pm 50) \text{ M}^{-1}$. Относительно невысокие значения констант стабильности, полученные для ДГК, по сравнению со значениями для сильно гидрофобных молекул [23, 24] связаны, скорее всего, с его гидрофильностью. Интересной особенностью комплекса ДГК- $\text{Na}_2\text{ГК}$ является увеличение его константы стабильности с ростом температуры ($125 \rightarrow 340 \text{ M}^{-1}$), что указывает на преимущественный вклад энтропийного фактора в изменение свободной энергии при комплексообразовании. Зная константу стабильности при двух значениях температуры, можно оценить основные термодинамические параметры комплексообразования: изменение энергии Гиббса $\Delta_r G_T^\circ$, энтальпии $\Delta_r H_T^\circ$ и энтропии $\Delta_r S_T^\circ$ по формулам

$$\Delta_r G_T^\circ = -RT \ln K \quad (2)$$

$$\ln(K_1/K_2) = \Delta_r H_T^\circ / R (1/T_2 - 1/T_1) \quad (3)$$

$$\Delta_r S_T^\circ = (\Delta_r H_T^\circ - \Delta_r G_T^\circ) / T \quad (4)$$

где K_1 и K_2 – значения констант стабильности комплекса, измеренные при температурах T_1 и

ТАБЛИЦА 2

Время спин-спиновой релаксации (T_{ϕ} , с) ароматических протонов пуэарина (ПР) при T , равных 30 и 50 °С, при растворении в воде исходной субстанции и твердых дисперсий (начальная концентрация $\text{Na}_2\text{ГК}$ – 2.3 мМ) с последующим разбавлением в 3 и 9 раз. Погрешность фитирования – менее 5 %

T , °С	ПР	ПР- $\text{Na}_2\text{ГК}$	ПР- $\text{Na}_2\text{ГК}$ /3	ПР- $\text{Na}_2\text{ГК}$ /9
30	1.26	0.74	1.01	1.50
50	1.43	1.18	1.36	2.06

T_2 . В результате были получены следующие значения термодинамических параметров: изменение энергии Гиббса $\Delta_r G^\circ(30\text{ °С}) = -12$ кДж/моль, энтальпии $\Delta_r H^\circ = +42$ кДж/моль и энтропии $\Delta_r S^\circ(30\text{ °С}) = +180$ Дж/(моль · К). Погрешность оценки составляет около 20 %.

Твердая дисперсия пуэарин- $\text{Na}_2\text{ГК}$ в соотношении 1 : 10, приготовленная с помощью механохимической технологии, проявила сходное “поведение” при растворении сухой смеси в воде. Данные измерений для ароматических протонов пуэарина (сигналы всех ароматических протонов перекрываются, поэтому измерялась суммарная интенсивность) представлены в табл. 2. Видно, что время релаксации ароматических протонов пуэарина в воде ниже, чем в разбавленном растворе комплекса, что указывает на то, что пуэарин в водных растворах существует в виде самоассоциатов. Необходимо отметить, что варьирование концентрации пуэарина от 3 до 0.3 мМ не приводит к существенному изменению времени релаксации протонов ($\pm 10\%$). В то же время разбавление комплекса в девять раз приводит к увеличению наблюдаемого времени релаксации с 0.74 до 1.5 с при 30 °С. Можно предположить, что молекулы пуэарина существуют в водных растворах в виде стабильных ассоциатов (возможно, димеров), которые не распадаются при разбавлении. Однако данные ассоциаты не образуются при растворении механохимически полученных ТД пуэарина с $\text{Na}_2\text{ГК}$. Построение зависимости времени релаксации протонов пуэарина от концентрации $\text{Na}_2\text{ГК}$ в координатах Бенеси – Хилдебранта (1) позволило оценить стехиометрию и константы стабильности комплекса: $n = 1$, $K(30\text{ °С}) = (480 \pm 50) \text{ M}^{-1}$ и $K(50\text{ °С}) = (1640 \pm 150) \text{ M}^{-1}$. Как и в случае комплекса с ДГК, комплекс пуэарина демонстрирует увеличение константы стабильности с ростом температуры, что указывает на преимущественный вклад энтропийного фактора в изменение свободной энергии при комплексообразовании. Согласно оценке термодинамических параметров комплексообразования, изменение энергии Гиббса $\Delta_r G_T^\circ = -16$ кДж/

моль, энтальпии $\Delta_r H_T^\circ = +50$ кДж/моль и энтропии $\Delta_r S_T^\circ = +220$ Дж/(моль · К) при 30 °С.

Аналогичные исследования ТД с полисахаридом АГ указывают на их более высокую стабильность. Характерная величина константы стабильности комплексов как ДГК, так и пуэарина с АГ, составляет $K(30\text{ °С}) = 10^4 \text{ M}^{-1}$ и уменьшается с ростом температуры. При этом изменения энтальпии и энтропии комплексообразования с ДГК составляют: $\Delta_r H_T^\circ = -9.55$ кДж/моль и $\Delta_r S_T^\circ = +39$ Дж/(моль · К) при 30 °С, что указывает на существенную роль Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий и десольватации молекул ДГК.

Исследование мембранной проницаемости

На первых этапах разработки лекарств для прогнозирования оральной биодоступности и фармакокинетических свойств потенциальных лекарственных препаратов важно иметь данные об их трансмембранной проницаемости. Такую быструю оценку можно получить, используя метод РАМРА. Основой метода служит модель проникновения молекул через искусственные мембраны, применение которой позволяет прогнозировать скорость пассивной диффузии БАВ через эпителиальные клетки стенок ЖКТ, а также гематоэнцефалический барьер и кожу [25].

Достоверное увеличение трансмембранного переноса флавоноидов наблюдается только для твердых дисперсий ДГК- $\text{Na}_2\text{ГК}$ и генистеин-АГ (рис. 3). Однако скорости переноса количественно не коррелируют с наблюдаемым увеличением значений растворимости указанных флавоноидов. В случае пуэарина скорости трансмембранного переноса как исходной субстанции, так и из его комплекса с $\text{Na}_2\text{ГК}$, в пределах экспериментальных погрешностей не различались. Для комплексов ДГК и пуэарина с АГ и генистеин- $\text{Na}_2\text{ГК}$ выявлено отсутствие транспорта. Также установлено, что рутин во всех случаях, как в виде субстанции, так и его комплексов с АГ и $\text{Na}_2\text{ГК}$, не диффундирует через искусственную мембрану.

Для детальной интерпретации наблюдаемых различий скоростей переноса требуются даль-

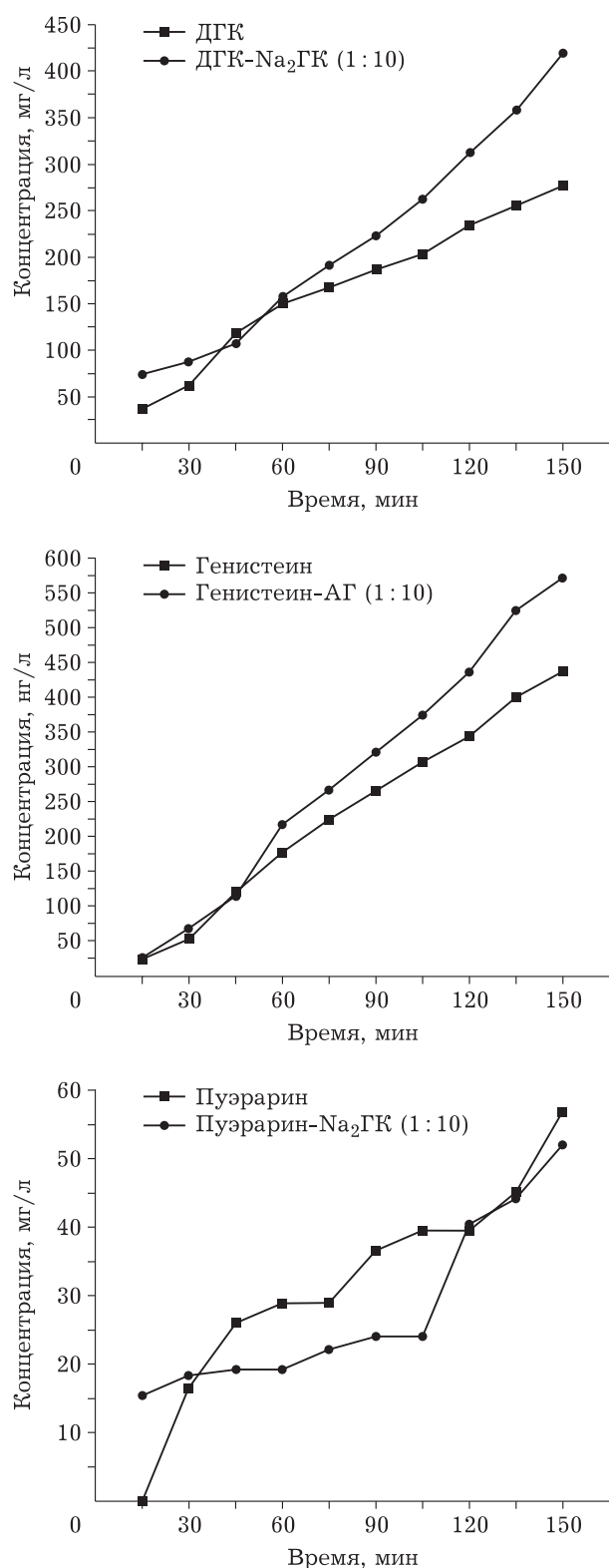


Рис. 3. Динамика пассивного транспорта (диффузии) молекул флавоноидов из растворов через искусственную мембрану.

нейшие исследования. Тем не менее полученные данные качественно совпадают с результатами исследований мембранной проницаемо-

сти на культуре клеток Сасо-2, показывающими, что транспорт флавоноидов через монослой этих клеток возрастает в ряду пуэарин > рутин > дигидрокверцетин > генистеин [26].

Необходимо отметить, что фармакокинетика полифенольных соединений, на основе которой определяется биодоступность, в организме человека обусловлена рядом сложных процессов, включающих образование конъюгатов, ферментацию в толстом кишечнике, трансформацию в печени. Кроме того, молекулы флавоноидов проявляют мембранотропные свойства [27] и могут влиять на транспортную активность переносчиков. Из этого можно заключить, что результаты модельного эксперимента не следует интерпретировать однозначно, поскольку метод РАМРА не учитывает метаболические превращения, активный транспорт и другие пути трансмембранного переноса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате механохимической обработки получены ТД флавоноидов (ДГК, рутин, генистеина и пуэарина) с комплексообразующими агентами (АГ и Na₂ГК) в массовом соотношении 1 : 10. Показана возможность увеличения их растворимости в 1.9–30 раз. С помощью метода ЯМР-релаксации подтверждено образование межмолекулярных комплексов при растворении полученных ТД в воде. Из концентрационной зависимости времени релаксации при различных температурах оценены константы стабильности и термодинамические параметры комплексов. Измеренная скорость трансмембранного переноса молекул флавоноидов через модельную гидрофобную мембрану не коррелирует с увеличением их растворимости. Повышение мембранной проницаемости незначительно. Вероятно, это связано с особенностями строения как молекул флавоноидов, так и супрамолекулярных систем на их основе. Полученные результаты в целом согласуются с литературными данными о низкой абсолютной биодоступности изученных соединений, обусловленной, по-видимому, как затрудненным трансмембранным переносом, так и метаболическими процессами.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИХТТМ СО РАН (проект 0301-2019-0005) и ИХКГ СО РАН (проект 0304-2017-0009).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Писарев Д. И., Новиков О. О., Селютин О. А., Писарева Н. А. // Науч. вестн. БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. 2012. Т. 18, № 10. С. 17–24.
- 2 Ganeshpurkar A., Saluja A. K. // Saudi Pharm. J. 2017. Vol. 25. P. 149–164.

- 3 Hertog M. G. L., Kromhout D., Aravanis C., Blackburn H., Buzina R., Fidanza F., Giampaoli S., Jansen A., Menotti A., Nedeljkovic S., Pekkarinen M., Simic B. S., Toshima H., Feskens E. J. M., Hollman P. C. H., Katan M. B. // *Arch. Int. Med.* 1995. Vol. 155, No. 5. P. 381–386.
- 4 Rimm E. B., Katan M. B., Ascherio A., Stampfer M. J., Willett W. C. // *Ann. Int. Med.* 1996. Vol. 125, No. 5. P. 384–389.
- 5 Song X. P., Chen P. P., Chai X. S. // *Acta Pharm. Sinica* 1988. Vol. 9, No. 1. P. 55–58.
- 6 Gao L., Ji X., Song J., Liu P., Yan F., Gong W., Dang S., Luo Y. // *Neurol. Res.* 2009. Vol. 31. P. 402–406.
- 7 Zhang S., Chen S., Shen Y., Yang D., Liu X., Sun-Chi A. C., Xu H. // *Biol. Pharm. Bull.* 2006. Vol. 29, No. 5. P. 945–950.
- 8 Hu M. // *Molecular Pharm.* 2007. Vol. 4, No. 6. P. 803–806.
- 9 Lobenberg R., Amidon G. L. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000. Vol. 50, No. 1. P. 3–12.
- 10 Krishnaiah Y. S. R. // *J. Bioequival. Bioavail.* 2010. Vol. 2, No. 2. P. 28–36.
- 11 Serajuddin A. T. M. // *Advanced Drug Delivery Rev.* 2007. Vol. 59, No. 7. P. 603–616.
- 12 Good D. J., Rodriguez-Hornedo N. // *Crystal Growth Design.* 2009. Vol. 9, No. 5. P. 2252–2264.
- 13 Душкин А. В., Сунцова Л. П., Халиков С. С. // *Фунд. исследования.* 2013. № 1. С. 448–457.
- 14 Сунцова Л. П., Метелева Е. С., Душкин А. В. // *Фунд. исследования.* 2014. Т. 10, № 11. С. 2174–2179.
- 15 Kong R., Zhu X., Meteleva E. S., Chistyachenko Yu. S., Suntsova L. P., Polyakov N. E., Khovstov M. V., Baev D. S., Tolstikova T. G., Yu J., Dushkin A. V., Su W. // *Int. J. Pharm.* 2017. Vol. 534. P. 108–118.
- 16 Xu W., Wen M., Dushkin A. V., Suntsova L. P., Markova I. D., Selyutina O. Y., Polyakov N. E. // *Curr. Drug Delivery.* 2018. Vol. 15, No. 5. P. 727–736.
- 17 Dushkin A. V., Tolstikova T. G., Khvostov M. V., Tolstikov G. A. // *The Complex World of Polysaccharides*, ed. by D. N. Karunaratne. Rijeka, Croatia: InTech, 2012. P. 573–602.
- 18 Selyutina O. Yu., Polyakov N. E. // *Int. J. Pharm.* 2019. Vol. 559. P. 271–279.
- 19 Метелева Е. С., Евсеенко В. И., Теплякова О. И., Халиков С. С., Поляков Н. Э., Апанасенко Е. И., Душкин А. В., Власенко Н. Г. // *Химия уст. разв.* 2018. Т. 26, № 3. С. 279–294.
- 20 Meteleva E. S., Chistyachenko Yu. S., Suntsova L. P., Tsyganov M. A., Vishnivetskaya G. B., Avgustinovich D. F., Khvostov M. V., Polyakov N. E., Tolstikova T. G., Mordvinov V. A., Dushkin A. V., Lyakhov N. Z. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2018. Vol. 481, No. 1. P. 228–231.
- 21 Kong R., Zhu X., Meteleva E. S., Polyakov N. E., Khvostov M. V., Baev D. S., Tolstikova T. G., Dushkin A. V., W. Su // *Drug Delivery and Translational Res.* 2018. Vol. 8, No. 5. P. 1200–1213.
- 22 Gabrielska J., Gagoz M., Gubernator J., Gruszecki W. I. // *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580, No. 11. P. 2658–2677.
- 23 Polyakov N. E., Khan V. K., Taraban M. B., Leshina T. V. // *J. Phys. Chem. B.* 2008. Vol. 112, No. 14. P. 4435–4440.
- 24 Polyakov N. E., Khan V. K., Taraban M. B., Leshina T. V., Salakhutdinov N. F., Tolstikov G. A. // *J. Phys. Chem. B.* 2005. Vol. 109, No. 51. P. 24526–24530.
- 25 Faller B. // *Curr. Drug Metabolism.* 2008. Vol. 9, No. 9. P. 886–892.
- 26 Fang Y., Cao W., Xia M., Pan S., Xu X. // *Nutrients.* 2017. Vol. 9, No. 12. P. 1301.
- 27 Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б. С., Музафаров Е. Н. *Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина.* Пушино: Synchronbook, 2013. 310 с.

