



Чекунков Евгений Владимирович

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЦИТРУСОВОГО ПЕКТИНА
С НЕСТЕРОИДНЫМИ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ
И АНТИМИКРОБНЫМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ:
СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань – 2024

Работа выполнена в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Научный руководитель: **Милюков Василий Анатольевич**
доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Мельникова Нина Борисовна**
доктор химических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», профессор кафедры аналитической и медицинской химии

Штырлин Юрий Григорьевич
доктор химических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ведущий научный сотрудник Научно-образовательного центра фармацевтики

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань

Защита диссертации состоится 28 июня 2024 года в 10:00 ч. на заседании диссертационного совета 24.2.312.03, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68, зал заседаний Учёного совета, А-330.

Отзывы на автореферат в 2-х экземплярах с подписями, заверенными печатью, просим направлять по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, д. 68, КНИТУ, учёному секретарю диссертационного совета 24.2.312.03.

С диссертаций можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» и на сайте КНИТУ https://www.kstu.ru/event.jsp?id=154673&id_cat=141.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
24.2.312.03



Терещенко Константин Алексеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования. Создание лекарственных препаратов с контролируемым высвобождением – одно из актуальных и интенсивно развивающихся направлений фармацевтической химии и фармакогнозии. Это обусловлено необходимостью контроля высвобождения действующих веществ из лекарственной формы с целью обеспечения биодоступности, пролонгированности действия и уменьшения (устранения) побочных эффектов лекарственного средства. Существующие методы контроля высвобождения активного вещества из готовой лекарственной формы можно подразделить на физические (гранулирование, коатирование) и химические. К числу последних относятся перевод активной молекулы в заряженную или нейтральную форму, а также ее иммобилизация в комплексах включения или на полимерных матрицах. Последний метод является наиболее перспективным, поскольку позволяет надежно изменить параметры фармакокинетики действующего вещества в широком интервале. Наибольшее распространение получили комплексы на основе низкомолекулярных лекарственных средств и синтетических полимеров (поливинилпирролидон, полиакриловая кислота, полиметилакриловая кислота и др.). Значительно реже в качестве матрицы для иммобилизации действующих веществ используются природные полимеры, в частности, пектины. Пектины – биополимеры полиуронидной природы, образованные остатками полигалактуроновой кислоты, которые соединены между собой α -(1-4)-гликозидными связями, при этом часть карбоксильных групп в них метилированы (G.B. Seymour, 2002, С.Т. Минзанова, 2011). Пектины обладают широким спектром биологической активности: иммуномодулирующей, противовоспалительной, противоопухолевой, противогликемической и т.д. (S.T. Minzanova, 2018). Одним из направлений химической модификации пектинов является их способность к реакциям соле- и комплексообразования, позволяющая создавать трехмерные структуры, отдельные элементы которых связаны друг с другом с помощью ионных и ковалентных связей (Q. Liu, 2019). Вместе с тем, в литературе представлено небольшое количество публикаций, посвященных использованию пектиновых полисахаридов для иммобилизации лекарственных веществ, таких как метронидазол (A. Vaidya, 2015), ацеклофенак (A.K. Nayak, 2013) и др.

В качестве объектов исследования нами были выбраны два класса лекарственных средств – нестероидные противовоспалительные препараты и антимикробные средства. Выбор данных классов соединений обусловлен в первую очередь их широкой распространенностью. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) обладают противовоспалительным, анальгезирующим и жаропонижающим эффектами и применяются при симптомах воспаления, лихорадки, боли, которые отмечаются при многих заболеваниях. Однако НПВС оказывают побочное действие на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), вызывая диспепсию, боли в животе, образование язв и эрозий желудка и двенадцатиперстной кишки, увеличивая риск перфорации язвы и желудочно-кишечных кровотечений, а также поражают нижние отделы ЖКТ – тонкого и толстого кишечника – более чем у 30% пациентов (S. Bindu, 2020, М.Д. Машковский, 2007).

Противомикробные препараты - продукты жизнедеятельности (или их синтетические аналоги и гомологи) живых клеток (бактериальных, грибковых, растительного и животного происхождения) - избирательно подавляют функционирование других клеток – микроорганизмов, опухолевых клеток и т.д. Они проявляют высокую избирательность и

активность по отношению к микроорганизмам, однако при этом вызывают ряд побочных эффектов: аллергические реакции (в том числе анафилактический шок), суперинфекции (дисбактериоз, ослабление иммунитета) и токсические явления (диспепсию, флебиты, нарушения функции печени и почек и др.) (М.Д. Машковский, 2007).

Таким образом, создание новых лекарственных форм пролонгированного действия с контролируемым высвобождением на основе пектина – природного полисахарида – является важным и актуальным. Это позволит обеспечить водорастворимость (биодоступность) и уменьшить побочные эффекты используемых лекарственных средств.

Цель и задачи исследования. Целью данного исследования стало установление общих закономерностей комплексообразования цитрусового пектина с рядом нестероидных противовоспалительных препаратов (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен) и некоторыми противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин), исследование физико-химических свойств полученных комплексов для создания новых лекарственных средств с контролируемым высвобождением, характеризующихся высокой биологической активностью и водорастворимостью, пролонгированным действием и пониженным ulcerогенным эффектом.

Для достижения поставленной цели нами были решены следующие **задачи**:

1. Разработка рациональных методов синтеза комплексов пектина с НПВС (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен);
2. Исследование физико-химических характеристик и структурных особенностей полученных комплексов пектина с НПВС;
3. Изучение биологической активности комплексов пектина с НПВС;
4. Разработка рациональных методов синтеза комплексов пектина с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин);
5. Исследование физико-химических характеристик и структурных особенностей полученных комплексов пектина с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин);
6. Изучение антимикробной активности комплексов пектина с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин);
7. Выявление закономерности типа «структура-свойство» целевых комплексов и проведение оценки их эффективности.
8. Установление норм качества и стандартизация фармацевтических субстанций: комплекса пектина с ибупрофеном П/ИБП 6 и комплекса пектата натрия с тетрациклином ПГNa/ТС 5.

Научная новизна работы состоит в следующем:

1. Впервые показано, что взаимодействие пектина с нестероидным противовоспалительным препаратом ибупрофеном протекает с образованием устойчивых водорастворимых комплексов, при этом установлено оптимальное соотношение пектин: ибупрофен (5.7:1 масс.) и максимальное количество ибупрофена, связанного в комплекс (15%). Оптимизированы условия получения комплексов пектина с ацетилсалициловой кислотой (4:1 масс.), определена их стехиометрия и установлено максимальное количество АСК, связанной в комплекс (16%).

2. Найдено, что взаимодействие пектата натрия с гидрохлоридом тетрациклина или гидрохлоридом амоксициллина протекает с образованием устойчивых водорастворимых комплексов с максимальным содержанием 6.7% тетрациклина или 8.0% амоксициллина.

3. Проведено исследование свойств комплексов пектина с нестероидными противовоспалительными и противомикробными препаратами с использованием физико-химических методов анализа (^{13}C ЯМР-, ИК-, УФ- спектроскопия, термогравиметрический анализ, совмещенный с дифференциальной сканирующей калориметрией, рентгеновская порошковая дифрактометрия, динамическое светорассеяние, электронная микроскопия), что позволило подтвердить образование устойчивых комплексов. Показано, что наиболее информативными методами изучения свойств комплексов являются рентгеновская порошковая дифрактометрия и термогравиметрический анализ. В частности, методом порошковой рентгеновской дифракции установлено, что в комплексах имеет место гомогенное распределение лекарственных средств с отсутствием выделения последних в исходную кристаллическую фазу. Исследование термостабильности комплексов, проведенное методом термогравиметрии, показало, что все использованные в работе низкомолекулярные лекарственные средства имеют одну стадию потери массы, связанную с их разложением. В свою очередь, пектин и комплексы на его основе имеют несколько стадий потери массы, обусловленных термическим разложением полимерного остова с выделением H_2O и CO_2 в качестве основных компонентов.

4. Впервые изучена противовоспалительная активность комплексов пектина с ибупрофеном и ацетилсалициловой кислотой на моделях *in vivo*. Показано, что активность комплексов с ибупрофеном и ацетилсалициловой кислотой выше, чем у исходных лекарственных препаратов. При этом ulcerогенное воздействие на слизистую желудка в группе крыс, получавших комплекс ибупрофена и пектина, проявилось в меньшей степени, чем у животных, получавших чистый ибупрофен.

5. Показано, что антимикробная активность комплексов пектина с тетрациклином сопоставима с активностью нативного гидрохлорида тетрациклина в отношении всех тест-микроорганизмов (*E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*), в то время как МБК комплексов по отношению к *S. aureus* в 2 раза выше по сравнению с чистым тетрациклином.

6. Впервые исследована фармакокинетика комплексов пектина с ибупрофеном и тетрациклином. Установлен пролонгированный характер высвобождения лекарственного препарата из комплекса в плазме крови лабораторных животных (крысы).

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработаны условия синтеза комплексов на основе пектина с НПВС и антибиотиками. Полученные результаты являются научной основой для создания новых лекарственных средств, характеризующихся высокой биологической активностью и биодоступностью, пролонгированным действием и пониженным ulcerогенным эффектом.

На примере комплексов пектина с ибупрофеном и тетрациклином выявлены параметры качества, определяющие их эффективность и безопасность, проведена стандартизация фармацевтических субстанций: комплекса пектина с ибупрофеном П/ИБП 6 и комплекса пектата натрия с тетрациклином ПГNa/ТС 5.

Методы и методология диссертационного исследования. Результаты работы получены по итогам исследования закономерностей комплексообразования пектиновых полисахаридов с НПВС (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен) и противомикробными

препаратами (тетрациклин и амоксициллин). В рамках проведенного исследования использован широкий набор современных физико-химических методов анализа (^{13}C ЯМР-, ИК-, УФ- спектроскопия; рентгеновская порошковая дифрактометрия, термогравиметрия с дифференциальной сканирующей калориметрией, изучение элементного состава, сканирующая электронная микроскопия, динамическое светорассеяние).

Положения, выносимые на защиту:

1. Методы синтеза комплексов цитрусового пектина с НПВС (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен) и с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин);
2. Закономерности комплексообразования цитрусового пектина с НПВС (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен) и противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин); оптимальные условия их получения и физико-химические свойства полученных комплексных соединений;
3. Оценка противовоспалительной активности и ulcerогенного действия комплексов П/АСК и П/ИБП;
4. Оценка противомикробной активности комплексов ПГNa/ТС и ПГNa/АХ.
5. Нормы качества, методы для контроля качества и стандартизация фармацевтических субстанций: комплекса пектина с ибупрофеном П/ИБП 6 и комплекса пектата натрия с тетрациклином ПГNa/ТС 5.

Достоверность результатов работы и обоснованность положений, выносимых на защиту, обеспечена высоким методическим уровнем проведения работы, применением современных инструментальных методов исследования, воспроизводимостью экспериментальных данных, соотношением полученных результатов с известными результатами теории и эксперимента, использованием количественных критериев при сравнении различных результатов, статистической обработкой результатов и достоверностью различий групп данных, в частности, для биологических экспериментов.

Личный вклад автора состоит в участии в постановке цели и задач исследования, анализе и обобщении литературных данных по тематике работы, планировании и проведении экспериментальных исследований, обсуждении полученных результатов и формулировке выводов, подготовке публикаций по теме исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (химические науки) по п. 1. «Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ» и п. 2. «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств».

Апробация работы. Основные результаты исследований, выполненных в рамках диссертационной работы, были представлены на всероссийских и международных конференциях (XXII Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 2019 г; XI Всероссийская научная конференция с международным участием и школой молодых ученых «Химия и технология растительных веществ», Сыктывкар, 2019 г; Markovnikov Congress on Organic Chemistry, Moscow-Kazan, 2019; XXI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry, Saint Petersburg, 2019; 53rd Annual Scientific

Meeting of the European Society for Clinical Investigation «The Clocks of Metabolism and Disease», Coimbra, Portugal, 2019; XII Международная научно-практическая конференция, Сочи, 2020; Международная научная экологическая конференция «Аграрные ландшафты, их устойчивость и особенности развития», Краснодар, 2020; XXIV Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 2021; Всероссийская научная конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии», Новосибирск, 2021; XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2021», 2021; XXV Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 2022; 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021», Волгоград, 2022.

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 15 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 10 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях.

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 194 страницах машинописного текста, включает введение, литературный обзор, обсуждение результатов, показатели норм качества полученных соединений, экспериментальную часть, выводы, список использованных библиографических источников, включающий 113 наименований, и приложения.

Во **Введении** обоснована актуальность выбранной темы исследования, определена цель и сформулированы задачи для ее достижения, изложены научная новизна, практическая значимость работы и положения, выносимые на защиту.

Первая глава (обзор литературы) посвящена пектиновым полисахаридам, их структуре, свойствам, методам получения, химической модификации. В литературном обзоре рассмотрены основные характеристики нестероидных противовоспалительных средств и противомикробных препаратов, а также приведен анализ исследований их взаимодействия с различными олиго- и полисахаридами.

Вторая глава (результаты и их обсуждение) посвящена анализу и обсуждению полученных в рамках диссертационной работы экспериментальных результатов. В **Части 2.1** представлены данные по комплексообразованию пектина с нестероидными противовоспалительными препаратами (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен), приведены физико-химические характеристики полученных комплексов и результаты биологических исследований. **Часть 2.2** посвящена взаимодействию полигалактуроната натрия с противомикробными препаратами (тетрацилин и амоксициллин) при варьировании концентрации последних, а также высвобождению ЛС из комплексов.

В **третьей главе** (показатели норм качества полученных соединений) обсуждены методы подтверждения подлинности и количественного определения фармацевтических субстанций П/ИБП 6 и ПГNa/ТС 5, а также результаты испытаний на микробиологическую чистоту полученных соединений.

В **четвертой главе** (экспериментальная часть) приведены характеристики реактивов и оборудования, используемых в работе, описаны методы и условия синтеза целевых продуктов, а также методы определения их физико-химических характеристик и биологических свойств.

Работа выполнена в технологической лаборатории Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова - обособленного структурного подразделения

федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук». Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-33-90222 «Аспиранты»).

Автор выражает благодарность своему научному руководителю, доценту, д.х.н. Милюкову В.А. за чуткое руководство и неоценимую помощь при выборе темы диссертационной работы, постановке задач и интерпретации полученных результатов; Минзановой Салиме Тахиятуловне за безграничную поддержку и помощь в обсуждении результатов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Молекулярные комплексы пектиновых полисахаридов с НПВС

1.1 Получение молекулярных комплексов пектина с НПВС

В рамках проведенных исследований впервые получены новые водорастворимые комплексы (1–8) пектина с нестероидным противовоспалительным препаратом «ибупрофен» взаимодействием 2%-ого водного раствора пектина с растворами ибупрофена, которое осуществлялось в водном этаноле при постоянном интенсивном перемешивании и температуре 55°C (схема 1).

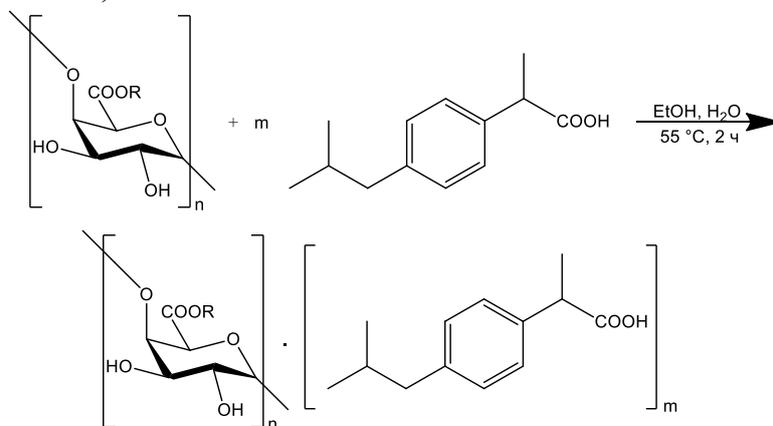


Схема 1 – Комплексы П/ИБП, R = H, CH₃; где n = 98; m = 2-15

Концентрация пектина, температура и продолжительность синтеза были оптимизированы, массовое соотношение пектин: ибупрофен и количество связанного ибупрофена приведены в таблице 1. Из реакционной среды комплексы 1–8 осаждали двойным объемом этилового спирта, центрифугировали, затем полученные осадки дважды промывали этанолом для отделения несвязанного ибупрофена, потом продукты высушивали и измельчали.

Количественное содержание ибупрофена определяли титриметрическим методом согласно ОФС 2.1.0100.18 (Ибупрофен) Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ XV). Найдено соединение-лидер (ПИБП 6), продемонстрировавшее содержание ибупрофена в составе комплекса 15% (таблица 1) при максимальном связывании ибупрофена с пектином и выходе продукта.

Аналогично исследовано комплексообразование пектина с ацетилсалициловой кислотой (АСК) (схема 2). Массовое соотношение пектин: АСК и количество связанного аспирина приведены в таблице 2. Количественное содержание АСК определяли титриметрическим методом согласно ОФС 2.1.0006.15 (Ацетилсалициловая кислота) ГФ РФ

XV. Найдено соединение-лидер (ПАСК 5), продемонстрировавшее содержание АСК 16% (таблица 2) при максимальном связывании ацетилсалициловой кислоты с пектином и выходе продукта.

Таблица 1 – Характеристические данные к синтезу комплексов П/ИБП

Образец	Массовое соотношение пектин: ибупрофен в реакционной среде	Количество связанного ибупрофена (% масс.) в полученных продуктах	Содержание ибупрофена в ПИБП, % масс.	Выход от теоретически возможного, % масс.	Растворимость комплексов, %
П/ИБП 1	40.0 : 1.0	74.58	2.24	81.27	100.00
П/ИБП 2	20.0 : 1.0	87.95	5.00	83.71	99.75
П/ИБП 3	13.3 : 1.0	55.23	5.46	70.53	99.33
П/ИБП 4	8.0 : 1.0	73.32	10.59	76.96	97.33
П/ИБП 5	6.7 : 1.0	79.71	13.83	75.17	96.00
П/ИБП 6	5.7 : 1.0	85.94	15.00	85.30	95.33
П/ИБП 7	5.0 : 1.0	75.86	16.66	75.88	95.33
П/ИБП 8	4.4 : 1.0	78.90	19.89	72.86	95.33

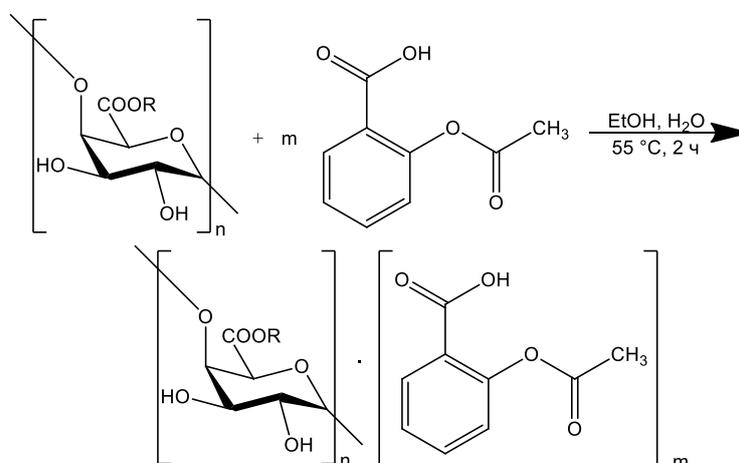


Схема 2 – Комплексы П/АСК, R = H, CH₃; n = 98, m = 2-16

Таблица 2 – Характеристические данные к синтезу комплексов П/АСК

Образец	Соотношение массы пектина к массе ацетилсалициловой кислоты	Количество связанной АСК, % масс.	Содержание АСК в полученных комплексах, % масс.	Выход от теоретически возможного, % масс.
Контроль	-	-		
П/АСК 1	40.0 : 1	92.82	2.79	81.29
П/АСК 2	13.3:1	70.99	9.87	79.89
П/АСК 3	8.0 : 1	62.69	11.93	78.27
П/АСК 4	5.3 : 1	60.00	12.20	77.68
П/АСК 5	4.0 : 1	61.38	15.93	77.08
П/АСК 6	2.7 : 1	55.16	20.34	73.95
П/АСК 7	2.0 : 1	54.23	25.08	72.08

в водном растворе наблюдается длинноволновый сдвиг второй полосы поглощения до $\lambda=294$ нм из-за увеличения цепи сопряжения при комплексообразовании. При этом положение первого максимума практически не меняется, но интенсивность уменьшается (рисунок 1Г).

Комплексообразование пектина с ибупрофеном было доказано методом ЯМР-спектроскопии (рисунок 2). ^{13}C ЯМР спектр комплекса в сравнении со спектрами чистых веществ отличается существенным уширением сигналов, относящихся к резонансу углеродов галактопиранозилуронидных фрагментов, в то время как углеродам нейтральных сахарных составляющих боковых цепей пектина соответствуют узкие интенсивные сигналы, сильно уширенным также оказывается сигнал, относящийся к резонансу углерода карбоксильной группы ибупрофена.

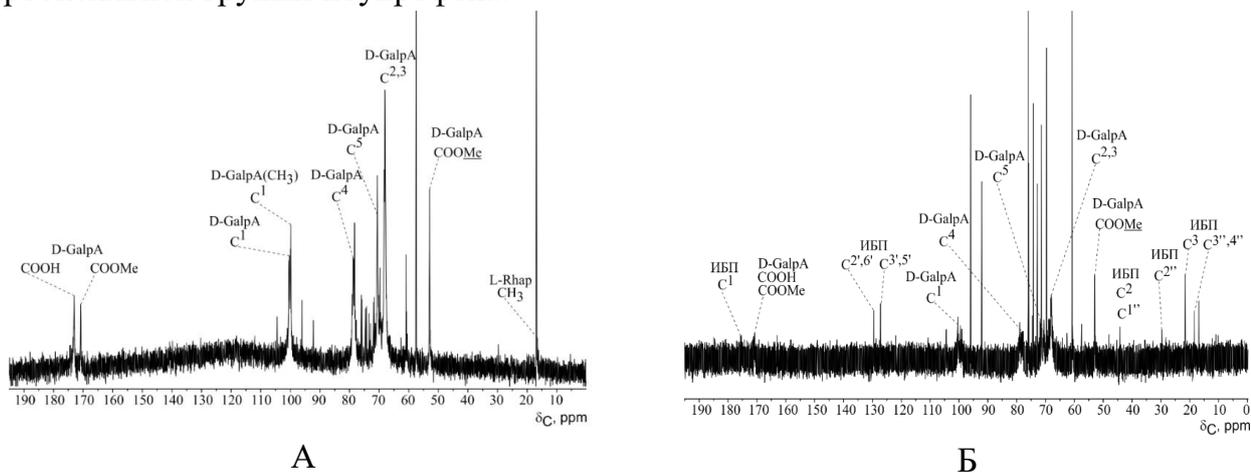


Рисунок 2 – Спектры ЯМР ^{13}C (150.9 МГц, D_2O) пектина (А) и комплекса П/ИБП 6 пектина с ибупрофеном (Б)

Дополнительно свидетельство комплексообразования пектина с ибупрофеном получено методом рентгеновской дифрактометрии. Так, для дифрактограммы чистого ибупрофена характерно наличие отчетливых интерференционных пиков, соответствующих его кристаллической фазе, для комплексов (1-4) в основном наблюдаются уширенные аморфные пики, причем их угловое положение и число отличаются от таковых для чистого пектина (рисунок 3). Совокупность полученных данных свидетельствует о том, что при взаимодействии пектина с ибупрофеном не происходит его выделения в исходную кристаллическую фазу в образцах (1-4), а наблюдается гомогенное распределение ибупрофена в массе пектина, что косвенно указывает на факт образования комплексов.

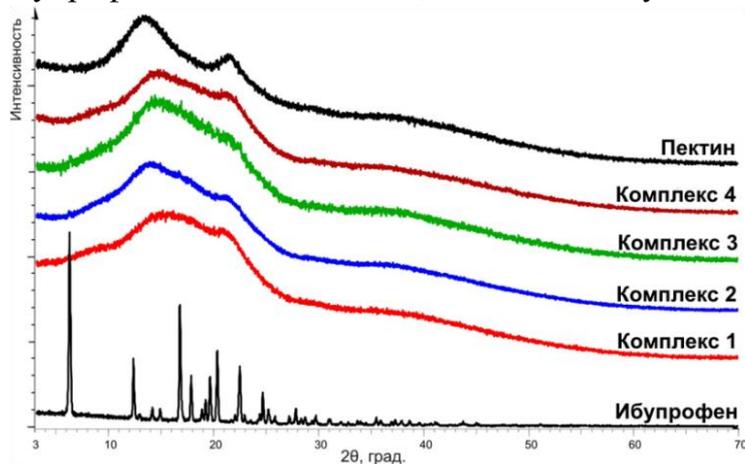


Рисунок 3 – Экспериментальные дифрактограммы для исследованных образцов пектина, ибупрофена и комплексов 1–4, 6, для наглядности кривые сдвинуты друг относительно друга по оси интенсивности

Исследование термостабильности методом ТГ/ДСК показало существенные отличия в поведении ибупрофена и комплексов 4 и 6 (рисунок 4). В отличие от ибупрофена,

демонстрирующего одну стадию потери массы при 289°C, исходный пектин и комплексы с различным содержанием ибупрофена имеют по три стадии потери массы с идентичными характеристичными температурными пиками на кривой ДТГ и соответствующими им пиками на кривой ДСК. Согласно соответствующим ИК-Фурье спектрам газообразных продуктов на первой и второй стадии происходит испарение свободной и связанной воды. Третья стадия, соответствующая декарбоксилированию полисахарида, сопровождается потерей массы ~40-55% в интервале температур 236-238°C.

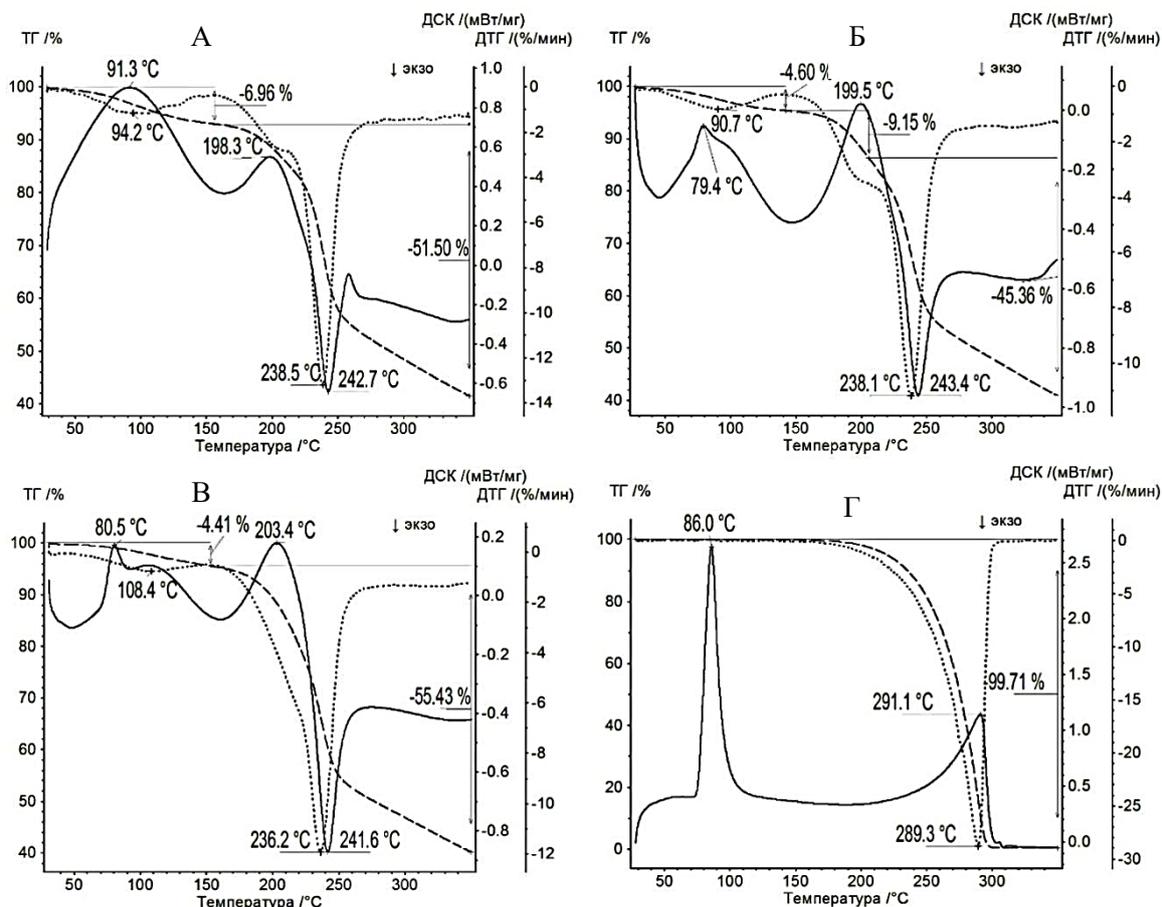


Рисунок 4 – ТГ/ДСК данные для пектина, ибупрофена и комплексов пектина с ибупрофеном: А – пектин, Б – комплекс П/ИБП 4, В – комплекс П/ИБП 6, Г – ибупрофен; здесь и далее: ДСК – сплошная линия, ТГ – штриховая, ДТГ – пунктирная

1.3 Изучение биологических характеристик комплексов пектина с НПВС

Нами показано, что полученные комплексы пектина с НПВС П/ИБП 6 и П/АСК 5 обладают низкой токсичностью. Так, при пероральном введении белым мышам комплексов П/ИБП 6 и П/АСК 5 LD₅₀ (полулетальная доза) комплексов не была определена (таблица 3), так как в исследованных группах остались живы все мыши (LD₅₀ > 5000 мг/кг). Это позволяет отнести полученные продукты к малотоксичным соединениям согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Исследование противовоспалительных свойств полученных комплексов пектина и ибупрофена (П/ИБП 6) была проведена на модели «Формалиновый отек лапы у крыс». Противовоспалительный эффект комплекса П/ИБП 6, а также пектина и ибупрофена в эквивалентной дозе, оцениваемый по уменьшению отека, выраженный в процентах к контролю, представлен в таблице 4. На основании полученных результатов показано, что наиболее высокий противовоспалительный эффект отмечался в группе крыс, получавших

комплекс П/ИБП 6. Его противовоспалительный эффект оказался больше, чем для нативного ибупрофена, в 2.5 раза.

Таблица 3 – Полулетальная доза исследованных веществ

Образец	LD ₅₀ , мг/кг
Пектин	> 5000
АСК	1600
П/АСК 5	> 5000
ИБП	636
П/ИБП 6	> 5000

Таблица 4 – Противовоспалительный эффект исследуемых веществ

Группа	% к контролю
Ибупрофен	10.1
Пектин	17.2
П/ИБП 6	25.1

При этом исследование ulcerогенного действия комплекса П/ИБП 6, а также пектина и ибупрофена в эквивалентной дозе, при однократном внутрижелудочном введении крысам суспензий на твине 80 показало, что ulcerогенное действие в группе крыс, получавших комплекс ибупрофена и пектина, проявилось в меньшей степени, чем у животных, получавших субстанцию ибупрофена (таблица 5).

Таблица 5 – Ulcerогенное действие исследуемых веществ

Группа	Степень повреждения, баллы
Контроль (твин 80)	0.17±0.12
Ибупрофен	1.42±0.56
Пектин	0.25±0.12
П/ИБП 6	1.08±0.33

Исследование фармакокинетики комплекса пектина с ибупрофеном П/ИБП 6 при однократном пероральном введении на лабораторных животных показало существенное отличие от фармакокинетики фармацевтической субстанции ибупрофена (рисунок 5, таблица 6).

Таблица 6 – Усреднённые фармакокинетические параметры изучаемых препаратов

Параметр	Группа животных	
	1 (ИБП)	2 (П/ИБП 6)
Максимальная концентрация, C _{max} , мкг/мл	9510.0	6660.0
Время достижения максимальной концентрации, T _{max} , ч	4.0	8.0
Период полувыведения, T _{1/2} , ч	16.8	не уст.
Общее количество лекарственного препарата, высвобожденного за 24 ч, AUC ₍₀₋₂₄₎ , мг·ч/мл	13.5	12.6
Относительная биодоступность, f, %	100.0	89.3

Кинетические кривые и параметры комплекса П/ИБП 6 достаточно сильно отличаются от показателей субстанции ибупрофена. В частности, максимальная концентрация ИБП, достигнутая за 24 ч исследования, составила 9510.0 мкг/мл, а П/ИБП 6 – 6660.0 мкг/мл, что на 30% ниже, чем для ИБП. Время достижения максимальной концентрации за 24 ч было в два раза дольше при введении комплекса пектина с ибупрофеном, что в целом объяснимо,

т.к. препараты отличаются лекарственной формой, высвобождение ибупрофена из матрицы препарата происходит медленнее, что свидетельствует о его пролонгированном действии.

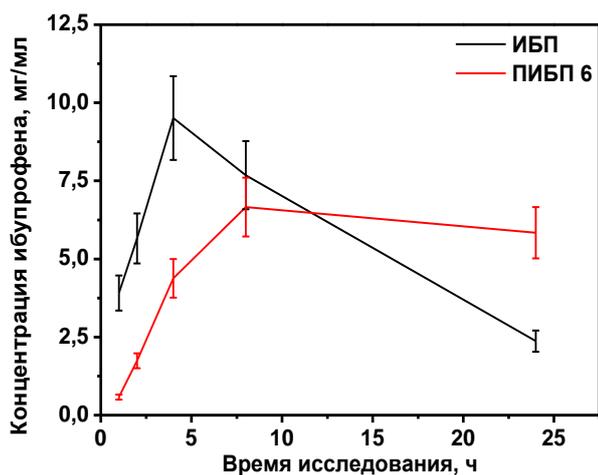


Рисунок 5 – Усреднённые фармакокинетические кривые ибупрофена в плазме крови белых крыс на фоне однократного внутрижелудочного введения ИБП и П/ИБП 6 в дозе 1000 мг/кг массы тела

Таким образом, нами разработан метод синтеза комплексов пектина с нестероидными противовоспалительными препаратами (ибупрофеном и ацетилсалициловой кислотой), позволяющий получать воспроизводимые результаты по синтезу комплексов с постоянной стехиометрией в оптимизированных условиях. Образование устойчивых комплексов доказано рядом физико-химических методов. Выявлены соединения-лидеры, продемонстрировавшие максимальное связывание ибупрофена (15%) и АСК (16%). Показана низкая токсичность комплексов пектина с НПВС ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). Сравнение фармакокинетических параметров ибупрофена и комплексов пектина с ибупрофеном, проведенное на моделях *in vivo*, свидетельствует о пролонгированном характере высвобождения лекарственного препарата из комплекса в плазме крови лабораторных животных.

2. Комплексы пектата натрия с противомикробными препаратами

2.1 Получение комплексов пектата натрия с антимикробными препаратами

На втором этапе нашей работы нами был разработан способ получения новых молекулярных комплексов пектина с противомикробными препаратами (тетрациклин, ТС и амоксициллин, АХ). Первоначальные попытки синтеза данных комплексов по методике, использованной с НПВС, то есть путем прямого взаимодействия пектина с лекарственным средством, оказались безуспешными – образование комплексов не имело место. Поэтому для синтеза продуктов с противомикробными препаратами мы использовали подход, основанный на предварительном переводе пектина в более растворимую форму пектата натрия и использовании гидрохлоридов тетрациклина и амоксициллина.

Впоследствии пектат натрия взаимодействовал с растворами гидрохлорида тетрациклина при варьировании концентраций последнего (схема 3). Концентрация пектата натрия, температура и продолжительность синтеза были оптимизированы, массовое соотношение ПГNa: тетрациклин и количество связанного тетрациклина в конечных продуктах представлено в таблице 7. Синтез проводили в водном этаноле при постоянном перемешивании и нагревании. Впоследствии из реакционной среды продукты осаждали этанолом, центрифугировали их и дополнительно промывали этиловым спиртом для очистки комплексов ПГNa/ТС 1–5 от физически сорбированного тетрациклина, высушивали и

измельчали. Количественное содержание ТС определяли методом атомно-адсорбционной спектроскопии и элементного анализа. Найдено соединение-лидер ПГNa/ТС 5, продемонстрировавшее максимальное связывание тетрациклина.

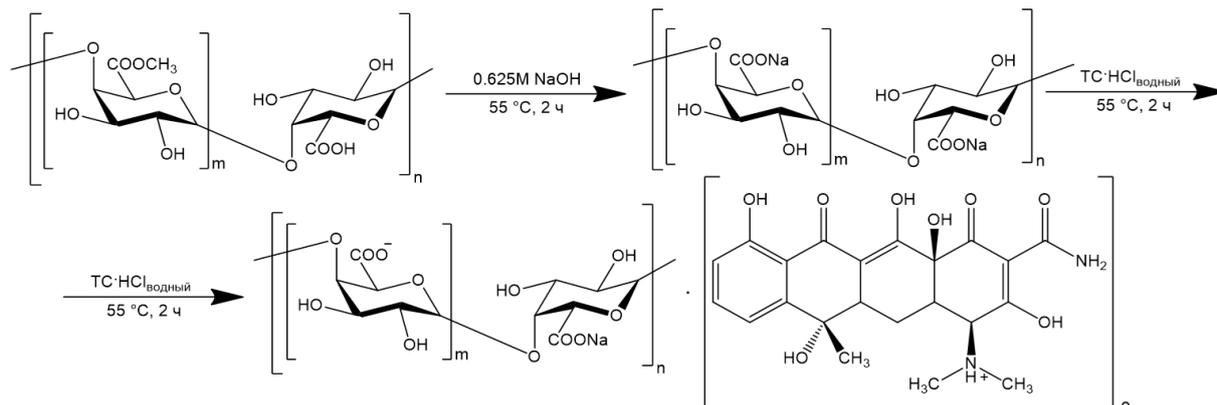


Схема 3 – Комплексы ПГNa/ТС, $n = 98$, $o = 2-4$

Таблица 7 – Характеристические данные к синтезу комплексов 1–5

Образец	Массовое соотношение ПГNa и ТС·HCl	Количество связанного тетрациклина (± 0.01), %
ПГNa/ТС 1	8.0:1.0	4.74
ПГNa/ТС 2	5.7:1.0	5.56
ПГNa/ТС 3	4.4:1.0	5.81
ПГNa/ТС 4	3.6:1.0	6.56
ПГNa/ТС 5	3.1:1.0	6.68

При изучении комплексообразования пектата натрия с амоксициллином (схема 4) был проведен ряд экспериментов для получения целевых продуктов. Массовое и мольное соотношение пектат натрия: амоксициллин приведены в таблице 8. Аналогично количественное содержание АХ определяли методом атомно-адсорбционной спектроскопии и элементного анализа. Найдено соединение-лидер ПГNa/АХ 3, продемонстрировавшее максимальное связывание амоксициллина (8 моль).

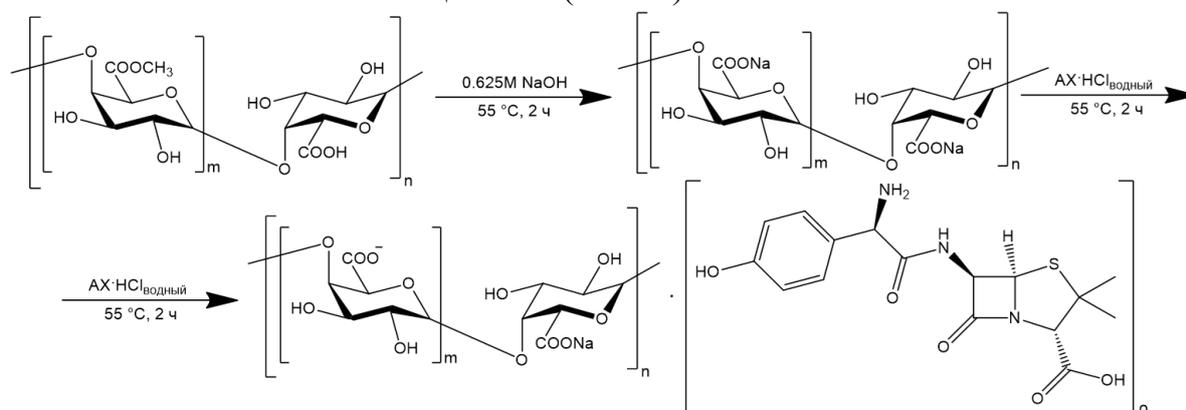


Схема 4 – Комплексы ПГNa/АХ, $n = 98$, $o = 2-4$

Таблица 8 – Характеристические данные к синтезу комплексов 1–3

Образец	Массовое соотношение ПГNa и гидрохлорида амоксициллина	Количество связанного амоксициллина (± 0.01), %
ПГNa/АХ 1	5.7:1.0	4.3
ПГNa/АХ 2	4.0:1.0	6.2
ПГNa/АХ 3	3.1:1.0	8.0

2.2 Исследование физико-химических свойств комплексов пектата натрия с противомикробными препаратами

Образование целевых комплексов подтверждено физико-химическими методами. Так, методом ИК- спектроскопии показано смещение полос поглощения валентных колебаний гидроксильных и карбоксильных групп пектата натрия при его связывании и с тетрациклином, и с амоксициллином (рисунок 6).

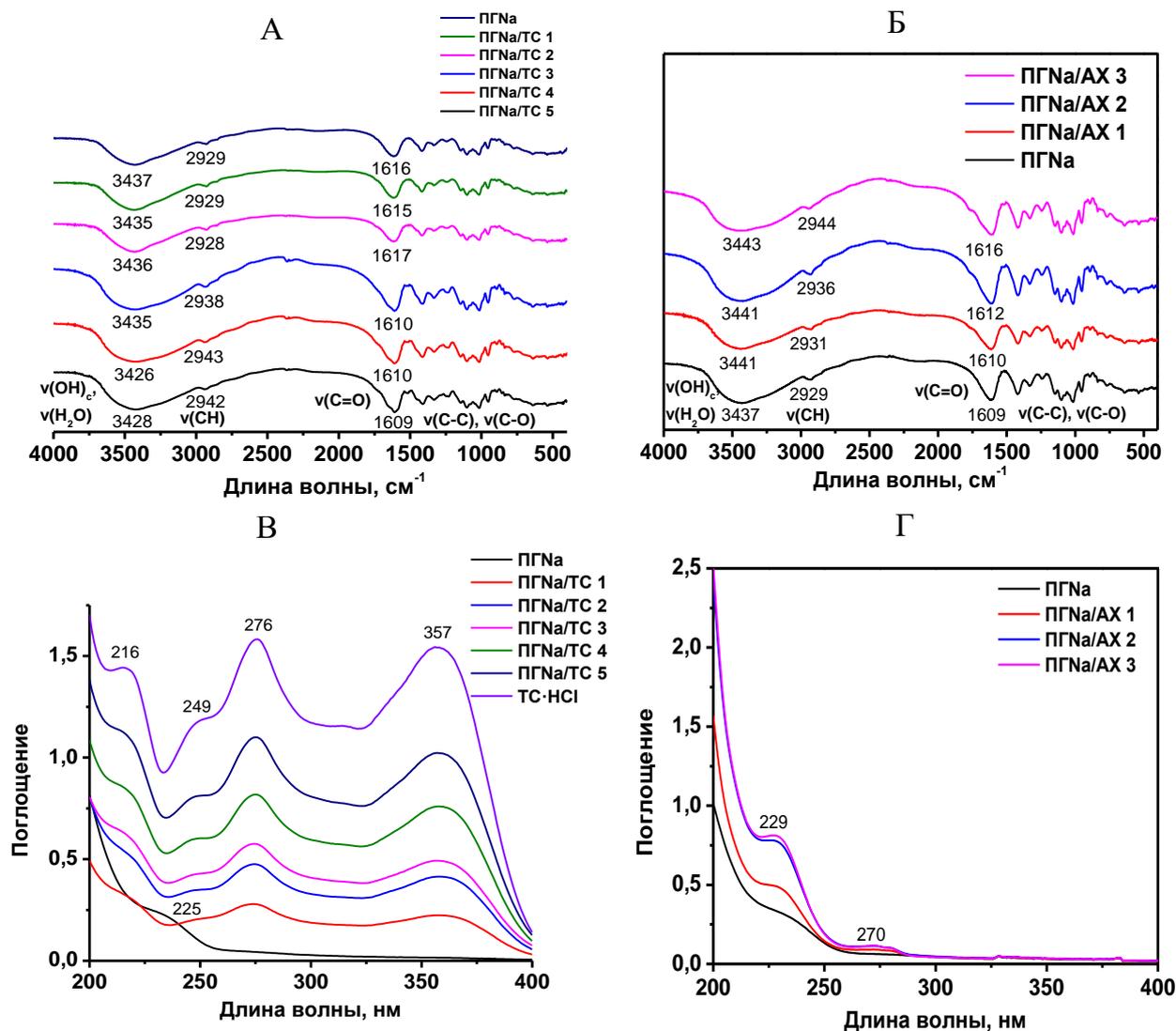


Рисунок 6 – ИК спектры пектата натрия и его комплексов с ТС и АХ (А и Б) и УФ спектры пектата натрия и его комплексов с ТС и АХ (В и Г)

В ИК спектрах комплексов ПГNa/ТС и ПГNa/АХ также наблюдается последовательное смещение полосы поглощения групп С=О с максимумами при 1609–1616 см⁻¹. Вероятно, это связано с образованием водородных связей между карбоксильными группами биополимера и молекулами лекарственных средств. Деформационные колебания групп в области 1200–1500 см⁻¹, характерные для связи С–Н, демонстрируют небольшое смещение, которое, возможно, обусловлено образованием ионных связей между карбоксильными группами ПГNa и исследованными азотсодержащими антибиотиками (рисунок 6).

Методом УФ- спектроскопии показано появление пиков тетрациклина при 276 нм и 357 нм, а также плеча при 225 нм в растворах комплексов с тетрациклином. В спектрах комплексов с амоксициллином наблюдаются плечи (230±2 нм и 270±2 нм), которые имеют максимальную интенсивность в случае образца 3 (рисунок 6). Водный раствор ПГNa

(концентрация 0.05%) не имеет характеристических полос в ультрафиолетовой области спектра, за исключением поглощения при 200 нм, которое проявляется и в УФ спектрах комплексов.

Дополнительно комплексообразование пектата натрия с тетрациклином было подтверждено методом ЯМР спектроскопии. ^{13}C ЯМР спектр комплекса в сравнении со спектром пектата натрия отличается уширением сигналов, относящихся к резонансу углеродов галактопиранозилуронидных фрагментов, в то время как углеродам нейтральных сахарных составляющих боковых цепей пектина соответствуют узкие интенсивные сигналы (рисунок 7).

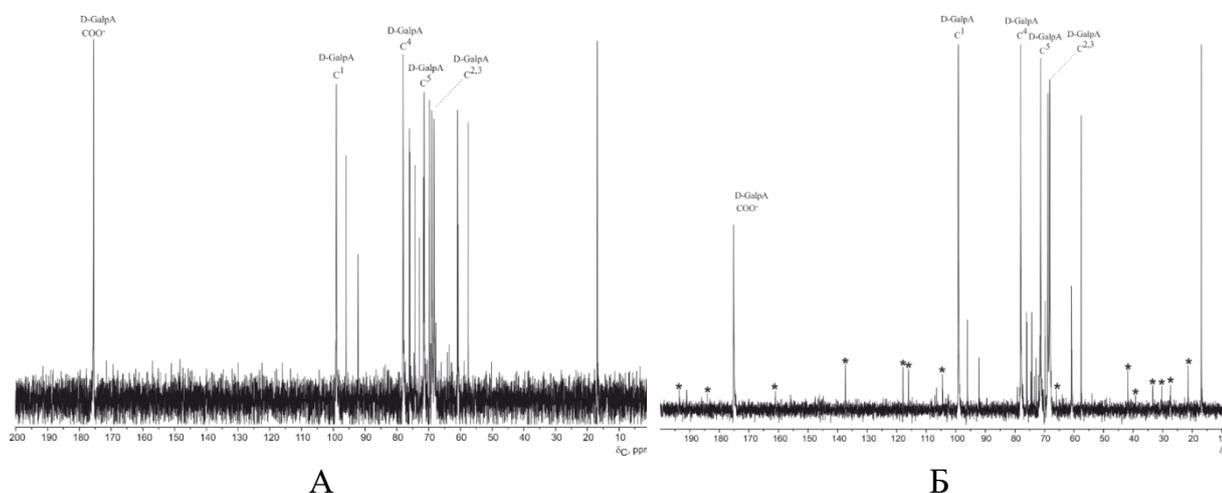


Рисунок 7 – Спектры ЯМР ^{13}C 100.9 МГц, D_2O) пектата натрия (А) и ПГNa/ТС 4 (Б)

* – сигналы углеродов тетрациклина

Для дифрактограммы гидрохлорида тетрациклина характерно наличие отчетливых интерференционных пиков, соответствующих его кристаллической фазе. На дифрактограммах ПГNa и ПГNa/ТС 2, 3, 5 наблюдаются серии достаточно уширенных пиков, причем их угловое положение, форма и число практически не отличаются для этих образцов, кроме комплекса 5, для которого наблюдаются нарушения морфологии крупных пиков, их смещение и появление нескольких очень слабых пиков на его дифрактограмме (рисунок 8).

Показано, что при взаимодействии ПГNa с $\text{TC}\cdot\text{HCl}$ не происходит выделения последнего в исходную кристаллическую фазу, а наблюдается гомогенное распределение в массе образца, что косвенно указывает на факт образования комплексов.

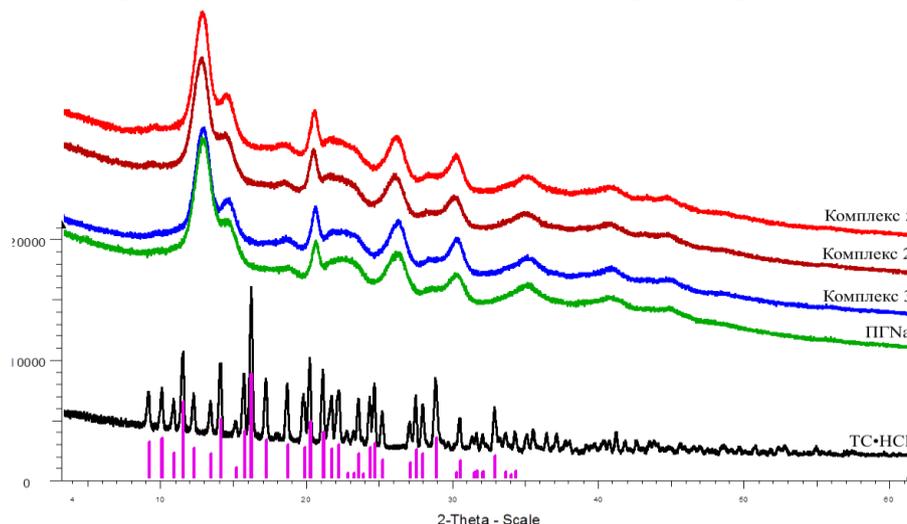


Рисунок 8 – Экспериментальные дифрактограммы для исследованных образцов ПГNa, гидрохлорида тетрациклина и комплексов (2, 3, 5), для наглядности кривые сдвинуты друг относительно друга по интенсивности

2.3 Изучение биологических характеристик комплексов пектата натрия с тетрациклином и амоксициллином

Исследование антимикробной активности полученных комплексов пектата натрия с противомикробными препаратами (тетрацилин и амоксициллин) по отношению к тест-штаммам: *S. aureus*, *B. cereus*, *E. Coli* (таблицы 9, 10) показало незначительное уменьшение противомикробной активности соединений ПГNa/ТС 3-5 и ПГNa/АХ 1,2 по сравнению с исходными препаратами.

Таблица 9 – Данные антимикробной активности ПГNa, гидрохлорида тетрацилина и комплексов 3, 4, 5 на их основе

Образцы	МИК – минимальные ингибирующие концентрации (для всех образцов, кроме ПГNa, результаты приведены в мкг/мл по Тетрациклину)		
	<i>Sa</i>	<i>Bc</i>	<i>Ec</i>
ПГNa	>5000	>5000	>5000
ПГNa/ТС 3	1.9 ± 0.1	0.9 ± 0.07	3.9 ± 0.3
ПГNa/ТС 4	1.9 ± 0.1	0.9 ± 0.06	3.9 ± 0.4
ПГNa/ТС 5	1.9 ± 0.1	0.9 ± 0.07	3.9 ± 0.3
Тетрацилин	0.9 ± 0.07	0.5 ± 0.04	0.9 ± 0.08
МБК – минимальные бактерицидные концентрации (мкг/мл по Тетрациклину)			
ПГNa	>5000	>5000	>5000
ПГNa/ТС 3	>125	62.5 ± 5.3	>125
ПГNa/ТС 4	62.5 ± 5.7	15.6 ± 1.2	31.3 ± 2.4
ПГNa/ТС 5	62.5 ± 5.5	15.6 ± 1.3	31.3 ± 2.6
Тетрацилин	31.3 ± 2.6	15.6 ± 1.3	31.3 ± 2.4

Испытания повторялись дважды; *Sa*, *Staphylococcus aureus*; *Bc*, *Bacillus cereus*; *Ec*, *Escherichia coli*

Таблица 10 – Данные антимикробной активности комплексов ПГNa/АХ 1-2 на основе полигалактуроната натрия

Образцы	МИК – минимальные ингибирующие концентрации (для всех образцов, кроме ПГNa, результаты приведены в мкг/мл по Амоксициллину)		
	<i>Sa</i>	<i>Bc</i>	<i>Ec</i>
Полигалактуронат натрия	> 5000	> 5000	> 5000
Комплекс ПГNa/АХ 1	0.25	>125	7.8
Комплекс ПГNa/АХ 2	0.125	>125	3.9
Амоксикар (препарат сравнения, $\omega_{\text{АХ}} = 80\%$)	0.125	>125	3.9
Минимальная бактерицидная активность (МБК, мкг/мл по Амоксициллину)			
Полигалактуронат натрия	> 5000	> 5000	> 5000
Комплекс ПГNa/АХ 1	0.25	>125	>125
Комплекс ПГNa/АХ 2	0.5	>125	>125
Амоксикар (препарат сравнения, $\omega_{\text{АХ}} = 80\%$)	0.5	>125	>125

Испытания повторялись дважды; *Sa*, *Staphylococcus aureus*; *Bc*, *Bacillus cereus*; *Ec*, *Escherichia coli*

В то же время, исследование фармакокинетики комплекса с тетрациклином при однократном пероральном введении на лабораторных животных в дозе 1000 мг/кг в различные временные периоды (1 ч, 2 ч, 4 ч, 8 ч, 24 ч) показало существенные отличия фармакокинетических параметров нативного тетрациклина и комплекса на его основе (рисунок 9, таблица 11).

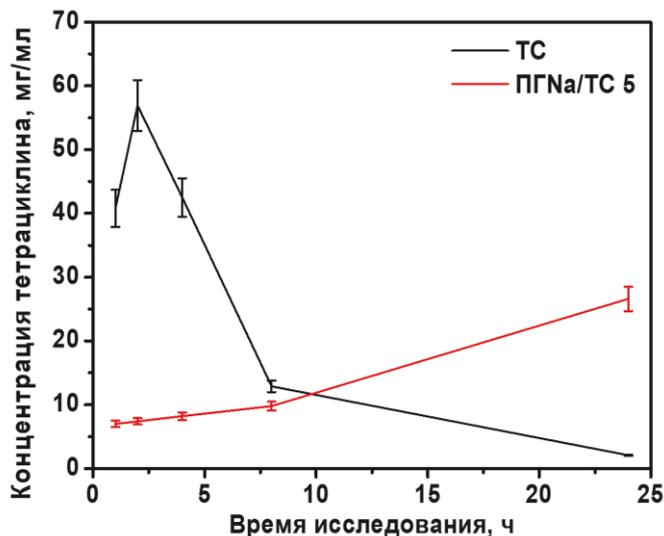


Рисунок 9 – Усреднённые фармакокинетические кривые тетрациклина в плазме крови белых крыс на фоне однократного внутрижелудочного введения ТС и ПГNa/ТС 5 в дозе 1000 мг/кг массы тела

Таблица 11 – Усреднённые фармакокинетические параметры изучаемых препаратов

Параметр	Группа животных	
	1 (ТС)	2 (ПГNa/ТС 5)
Максимальная концентрация, C_{\max} , мкг/мл	56.9	26.6
Время достижения максимальной концентрации, T_{\max} , ч	2.0	24.0
Период полувыведения, $T_{1/2}$, ч	6.1	не уст.
Общее количество лекарственного препарата, высвобожденного за 24 ч, $AUC_{(0-24)}$, мг·ч/мл	9.1	7.8
Относительная биодоступность, f , %	100	85.0

Так, максимальная концентрация ТС, достигнутая за 24 ч исследования, составила 56.9 мкг/мл, а ПГNa/ТС 5 – 26.6 мкг/мл, что на 53% ниже, чем для ПГNa/ТС 5. Время достижения максимальной концентрации за 24 ч было в 12 раз дольше, что в целом объяснимо, т.к. препараты отличаются лекарственной формой, вероятно, высвобождение тетрациклина из матрицы препарата происходит значительно медленнее. Эти данные свидетельствуют о перспективе использования ПГNa/ТС 5 как пролонгированного препарата. Относительная биодоступность тетрациклина из ПГNa/ТС 5 относительно ТС, взятой за 100%, составила 85.0%.

Нами показано, что полученный комплекс пектина с тетрациклином ПГNa/ТС 5 обладает низкой токсичностью, так как при его пероральном введении белым мышам в исследованных группах остались живы все мыши ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). Это позволяет отнести полученный продукт к малотоксичным соединениям согласно ГОСТ 12.1.007-76 (таблица 12).

Таблица 12 – Полулетальная доза исследованных веществ

Образец	LD ₅₀ , мг/кг
Пектин	> 5000
ТС	2759
ПГNa/ТС 5	> 5000

3. Стандартизация и методы контроля качества фармацевтических субстанций

3.1 Комплекс пектина с ибупрофеном П/ИБП 6

Для наиболее перспективного соединения П/ИБП 6, отобранного на основании результатов изучения его свойств, был разработан рабочий стандартный образец и определены показатели его норм качества. Комплекс П/ИБП 6 - аморфный порошок от светло-бежевого до бежевого цвета, умеренно медленно растворимый в воде с образованием опалесцирующего раствора. Подлинность комплекса П/ИБП 6 подтверждали методами ИК- и УФ- спектроскопии, а также поляриметрии. 0.5%-й водный раствор исследуемого продукта должен выдерживать сравнение с эталоном III или IV в испытании «Прозрачность раствора» и иметь белую опалесценцию. рН такого раствора должен быть не менее 3.0, не более 4.5.

Содержание хлоридов в комплексе П/ИБП 6 должно быть не более 0.1%, потеря в массе при высушивании – не менее 6.0%, не более 12.0%, общая и сульфатная зола должны составлять не более 10.0% и 3.3% в пересчете на сухое вещество соответственно. В остатке после определения сульфатной золы должно быть не более 0.001% тяжелых металлов.

Содержание остаточных органических растворителей (этилового спирта) определяли при помощи метода газовой хроматографии. Содержание этилового спирта должно составлять не более 0.5% в субстанции в пересчете на сухое вещество. Количественное определение проводили методом титриметрии, содержание ибупрофена в фармсубстанции не менее 13.5% и не более 16.5%.

В 1 г субстанции допускается наличие аэробных бактерий не более 10^3 КОЕ (суммарно), грибов не более 10^2 КОЕ (суммарно). Не допускается наличие микроорганизмов *Escherichia coli* в 1 г субстанции.

3.2 Комплекс пектата натрия с тетрациклином ПГNa/ТС 5

Для наиболее перспективного соединения ПГNa/ТС 5, отобранного на основании результатов изучения его свойств, был разработан рабочий стандартный образец и определены показатели его норм качества. Комплекс ПГNa/ТС 5 – аморфный порошок от темно-бежевого до коричневого цвета, умеренно медленно растворимый в воде. Подлинность комплекса ПГNa/ТС 5 определяли методами ИК- и УФ- спектроскопии, а также поляриметрии.

0.5%-й водный раствор исследуемого продукта должен быть прозрачным и иметь желтую окраску. рН такого раствора должен составлять не менее 5.0, не более 6.5.

В комплексе ПГNa/ТС 5 потеря в массе при высушивании должна составлять не менее 6.0%, не более 12.0%, общая и сульфатная зола должны составлять не более 20.0% и 3.3% в пересчете на сухое вещество соответственно. В остатке после определения сульфатной золы должно быть не более 0.001% тяжелых металлов.

Содержание остаточных органических растворителей (этилового спирта) определяли методом газовой хроматографии. Содержание этилового спирта должно составлять не более

0.5% в субстанции в пересчете на сухое вещество. Количественное определение проводили методами атомно-абсорбционной спектроскопии и элементного анализа, содержание тетрациклина в фармсубстанции не менее 6.0% и не более 7.4%.

В 1 г субстанции допускается наличие аэробных бактерий не более 10^3 КОЕ (суммарно), грибов не более 10^2 КОЕ (суммарно). Не допускается наличие микроорганизмов *Escherichia coli* в 1 г субстанции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что взаимодействие пектина с нестероидными противовоспалительными препаратами (ибупрофеном и ацетилсалициловой кислотой) протекает с образованием комплексов, в которых максимальное содержание ибупрофена и ацетилсалициловой кислоты достигает 15% и 16% соответственно.

2. Разработан метод синтеза комплексов пектина с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин), базирующийся на взаимодействии пектата натрия с гидрохлоридом тетрациклина и гидрохлоридом амоксициллина соответственно. Установлено, что максимальное содержание противомикробных препаратов в комплексах с пектином составляет 6.7% для тетрациклина и 8.0% в случае амоксициллина.

3. Образование устойчивых комплексов пектина с нестероидными противовоспалительными и противомикробными препаратами доказано рядом физико-химических методов. В частности, методом порошковой рентгеновской дифракции установлено, что в комплексах имеет место гомогенное распределение лекарственных средств с отсутствием выделения последних в исходную кристаллическую фазу. Исследование термостабильности комплексов, проведенное методом термогравиметрии, показало, что все использованные в работе низкомолекулярные лекарственные средства имеют одну стадию потери массы, связанную с их разложением, в то время как пектин и комплексы на его основе имеют несколько стадий потери массы, обусловленных термическим разложением полимерного остова с выделением H_2O и CO_2 в качестве основных компонентов.

4. Проведено изучение противовоспалительной активности комплексов пектина с ибупрофеном и ацетилсалициловой кислотой на моделях *in vivo*. Установлено, что активность комплексов с ибупрофеном (модель «Формалиновый отек лапы у крыс») и ацетилсалициловой кислотой (модель «Горячая пластинка») выше, чем у исходных лекарственных препаратов. При этом ulcerогенное действие в группе крыс, получавших комплекс ибупрофена и пектина, проявилось в меньшей степени, чем у животных, получавших чистый ибупрофен.

5. Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация комплексов пектина с тетрациклином на моделях *in vitro* сопоставима с активностью чистого препарата тетрациклина в отношении всех тест-микроорганизмов (*E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*), в то время как минимальная бактериостатическая концентрация комплексов пектина с тетрациклином по отношению к *B. cereus* сопоставима с чистым тетрациклином, а по отношению к *S. aureus* в 2 раза выше.

6. Сравнение фармакокинетических параметров ибупрофена и комплексов пектина с ибупрофеном, а также тетрацикина и комплексов пектина с тетрациклином, проведенное на моделях *in vivo*, свидетельствует о пролонгированном характере высвобождения

лекарственного препарата из комплекса в плазму крови лабораторных животных. Время достижения максимальной концентрации вещества в плазме крови составляет 4.0 ч и 8.0 ч для ибупрофена и комплекса пектина с ибупрофеном соответственно (при сравнимой биодоступности (100% и 89%)). Для комплекса пектина с тетрациклином время достижения максимальной концентрации вещества в плазме крови составило 24.0 ч по сравнению с 2.0 ч для тетрациклина при схожей биодоступности 85% и 100% соответственно.

7. Установлены параметры качества и проведена стандартизация фармацевтических субстанций комплексов пектина с ибупрофеном и тетрациклином, определяющие их эффективность и безопасность.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты являются фундаментальной основой для **дальнейшей разработки перспективных** противовоспалительных и противомикробных лекарственных средств на основе пектиновых полисахаридов. Разработанные методы синтеза комплексов цитрусового пектина с НПВС (ацетилсалициловая кислота и ибупрофен) и с противомикробными препаратами (тетрациклин и амоксициллин) с потенциальными практически полезными свойствами являются важными для развития современной фармацевтической химии.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для размещения материалов диссертаций:

1. **Чекунков, Е.В.** Новые комплексы пектиновых полисахаридов с нестероидными противовоспалительными средствами / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, А.В. Хабибуллина, Д.М. Архипова, Л.Г. Миронова, А.В. Немтарев, А.Р. Хаматгалимов, А.Т. Губайдуллин, В.А. Милюков // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2020. – Т. 69, № 3. – С. 572-580.

2. **Чекунков, Е.В.** Комплексные препараты на основе цитрусового пектина для доставки тетрациклина / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, А.В. Хабибуллина, Д.М. Архипова, Л.Г. Миронова, А.Т. Губайдуллин, И.С. Рыжкина, Л.И. Муртазина, В.А. Милюков // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2022. – Т. 71, № 3. – С. 549-556.

3. Vyshtakaliuk, A.B. Anti-inflammatory effect of the molecular pectin complex with acetylsalicylic acid on a model of carrageenan paw edema in rats / A.B. Vyshtakaliuk, K.N. Bushmeleva, O.A. Lenina, L.F. Gumarova, S.T. Minzanova, A.A. Parfenov, G.P. Belyaev, L.G. Mironova, **E.V. Chekunkov**, V.V. Zobov // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2020. – Vol. 11, No. 4. – P. 1581-1591.

4. Minzanova, S.T. Preparation, composition, and physicochemical properties of pectin complexes with ibuprofen / S.T. Minzanova, **E.V. Chekunkov**, V.A. Milyukov, L.G. Mironova, A.V. Khabibullina, D.M. Arkhipova, A.I. Samigullina, A.T. Gubaidullin, V.F. Mironov // Doklady Physical Chemistry. – 2020. – Vol. 491, No. 1. – P. 24-28.

5. **Chekunkov, Y.V.** Citrus pectin based complexes for the tetracycline delivery / Y.V. Chekunkov, S.T. Minzanova, A.V. Khabibullina, D.M. Arkhipova, L.G. Mironova, A.D. Voloshina, A.R. Khamatgalimov, V.A. Milyukov // Food Hydrocolloids for Health. – 2022. – Vol. 2. – Article 100100.

Тезисы докладов:

1. **Чекунков, Е.В.** Исследование взаимодействия ацетилсалициловой кислоты с пектином методом ИК спектроскопии / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, В.А. Милуков // XXII Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием): сб. тез. докл. – Нижний Новгород, 2019. – С. 205.

2. **Чекунков, Е.В.** Термодинамические свойства комплексов пектина с нестероидными противовоспалительными препаратами / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, А.Р. Хаматгалимов, В.А. Милуков // XI Всероссийская научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ»: сб. тез. докл. – Сыктывкар, 2019. – С. 247.

3. **Chekunkov, E.V.** Preparation of pectin complexes with nonsteroidal anti-inflammatory drugs / E.V. Chekunkov, S.T. Minzanova, L.G. Mironova, A.R. Khamatgalimov, V.A. Milyukov // Markovnikov Congress on Organic Chemistry: abstracts.– Moscow-Kazan, 2019. – P. 37.

4. **Chekunkov, E.V.** Synthesis of new pectin complexes with ibuprofen / E.V. Chekunkov, S.T. Minzanova, L.G. Mironova, A.R. Khamatgalimov, V.A. Milyukov // XXI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry: abstracts. – Saint Petersburg, 2019. – P. 118.

5. **Чекунков, Е.В.** Синтез комплексов пектина с тетрациклином и их исследование методом ИК спектроскопии / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, В.А. Милуков // XXIV Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием): сб. тез. докл. – Нижний Новгород, 2021. – С. 141.

6. **Чекунков, Е.В.** Молекулярные комплексы цитрусового пектина с ибупрофеном / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, А.В. Хабибуллина, В.А. Милуков // Всероссийская научная конференция с международным участием «Современные проблемы органической химии»: сб. тез. докл. – Новосибирск, 2021. – С. 59.

7. **Chekunkov, E.V.** New pectin complexes with tetracycline: synthesis, properties and antimicrobial activity / E.V. Chekunkov, S.T. Minzanova, L.G. Mironova, A.D. Voloshina, V.A. Milyukov // XII International Conference on Chemistry for Young Scientists “Mendeleev 2021”: book of abstracts. – Saint Petersburg, 2021. – P. 525.

8. **Чекунков, Е.В.** Комплексы модифицированного пектина с ибупрофеном: получение и физико-химические свойства / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, В.А. Милуков // XXV Всероссийская конференция молодых учёных-химиков (с международным участием): сб. тез. докл. – Нижний Новгород, 2022. – С. 161.

9. Минзанова, С.Т. Противовоспалительная активность комплексов пектина с ибупрофеном / С.Т. Минзанова, **Е.В. Чекунков**, Л.Г. Миронова, А.Б. Выштакалюк, В.А. Милуков // 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021»: сб. тез. докл. – Волгоград, 2022. – С. 437.

10. **Чекунков, Е.В.** Новые нетоксичные формы нестероидных противовоспалительных средств: синтез и высвобождение / Е.В. Чекунков, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, В.А. Милуков // III Научная конференция с международным участием «Динамические процессы в химии элементоорганических соединений», посвященная 145-летию со дня рождения академика А.Е. Арбузова: сб. тез. докл. – Казань, 2022. – С. 188.