

УДК 615.012.1:615.276:615.065

**А. Б. Выштакалюк, С. Т. Минзанова, Е. В. Чекунков,  
О. А. Ленина, Л. Ф. Гумарова, Г. П. Беляев, Д. Ф. Абрамова, А. А. Парфенов,  
Л. Р. Хасаншина, К.Н. Бушмелева, Л. Г. Миронова, В. В. Зобов**

## **СИНТЕЗ И ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ПЕКТИНА С ДИКЛОФЕНАКОМ**

*Ключевые слова: синтез, биологические свойства, комплекс пектина с НПВС Диклофенак.*

Целью настоящего исследования было получение молекулярного комплекса пектина с НПВС Диклофенак и изучение некоторых его биологических свойств в сравнении с исходным препаратом. Целевой комплекс получен путем перемешивания в течение 2 ч на магнитной мешалке 2% водного раствора цитрусового пектина и 1.05% раствора Диклофенака в 60% водном этаноле в пропорции 3:1. Образование комплекса доказано методом ИК-спектроскопии, так как в ИК спектре комплекса выявлены полосы поглощения с максимумами 1751, 1696 и 1618 см<sup>-1</sup>, отличающиеся от таковых для чистого пектина 1746 и 1637 см<sup>-1</sup> и для Диклофенака, не имеющего максимумов поглощения в исследуемой области. Было показано, комплексобразование с пектином привело к значительному снижению токсичности и ulcerогенного действия на желудок НПВС Диклофенака. Так, полудетальная доза LD<sub>50</sub> Диклофенака составила 393.00 мг/кг, а летальная LD<sub>100</sub> - 492.50 мг/кг. В дозе 3125.5 мг/кг, эквимолярной дозе Диклофенака 500 мг/кг, комплекс оказался не токсичным и при однократном введении не вызывал признаков негативного воздействия на желудок. После 10-дневного курса введения комплекса в дозе 31.25 мг/кг, эквивалентной терапевтической дозе Диклофенака 5 мг/кг признаки повреждения слизистой желудка (0.5 баллов) были аналогичны контрольной группе, которой вводили воду (0.3 балла), в то время как 5 мг/кг Диклофенака при введении в аналогичных условиях приводило к ulcerогенному эффекту, оцениваемому в 2.0 балла. Противовоспалительный эффект комплекса по некоторым параметрам был сопоставим с исходным препаратом, а по некоторым незначительно снизился.

**A. B. Vyshtakalyuk, S. T. Minzanova, E. V. Chekunkov, O. A. Lenina,  
L. F. Gumarova, G. P. Belyaev, D.F. Abramova, A.A. Parfenov,  
L. R. Khasanshina, K. N. Bushmeleva, L.G. Mironova, V. V. Zobov**

## **MOLECULAR COMPLEX OF PECTIN WITH DICLOFENAC: SYNTHESIS AND INITIAL ASSESSMENT OF BIOLOGICAL PROPERTIES**

*Key-words: synthesis, biological properties, a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) Diclofenac – Pectin complex.*

The aim of this study was to obtain a molecular complex of pectin with NSAID Diclofenac and to study some of its biological properties in comparison with the original drug. The target complex was obtained by stirring for 2 h on a magnetic stirrer 2% aqueous solution of citrus pectin and 1.05% solution of Diclofenac in 60% aqueous ethanol in a ratio of 3:1. The formation of the complex was proved by IR spectroscopy, since the IR spectrum of the complex revealed absorption bands with highs 1751, 1696, and 1618 cm<sup>-1</sup>, which differ from those for pure pectin at 1746 and 1637 cm<sup>-1</sup> and for Diclofenac, which does not have absorption peaks in the studied area. It was shown that complexation with pectin led to a significant decrease in toxicity and ulcerogenic effect on the stomach of NSAID Diclofenac. Thus, the half-lethal dose LD<sub>50</sub> of Diclofenac was 393.00 mg / kg, and the lethal dose LD<sub>100</sub> was 492.50 mg / kg. At a dose of 3125.5 mg / kg, an equimolar dose of Diclofenac 500 mg / kg, the complex turned out to be non-toxic and did not cause signs of a negative effect on the stomach after a single administration. After a 10-day course of administration of the complex at a dose of 31.25 mg / kg, equivalent to a therapeutic dose of Diclofenac 5 mg / kg, signs of damage to the gastric mucosa (0.5 points) were similar to the control group, which was administered water (0.3 points), while 5 mg / kg of Diclofenac when administered under similar conditions led to an ulcerogenic effect, estimated at 2.0 points. The anti-inflammatory effect of the complex in some parameters was comparable to that of the original drug, and in some it slightly decreased.

Целый ряд работ последних лет посвящен исследованию модификаций углеводов с целью получения продуктов с новыми свойствами. Так, в работе [1] показано, что химическая модификация целлюлозы приводит к изменению физических свойств, а именно, к повышению термостойкости. В работе [2] приведены результаты синтеза росторегулирующих веществ с использованием углевода L-рамнозы. Модификация пектиновых полисахаридов используется в биомедицинских исследованиях. Известны работы, где пектин используется в качестве средства доставки лекарственных препаратов. Так, в работе [3] описаны полиэлектролитные капсулы на основе

хитозана и пектина с инкапсулированным биологически активным веществом. Ранее нами были синтезированы комплексы пектина с дикарбоновыми кислотами (янтарная, фумаровая) [4], а также комплекс с известным НПВС ацетилсалициловой кислотой [5, 6]. Было показано снижение токсичности янтарной, фумаровой и ацетилсалициловой кислот в составе молекулярных комплексов [4-6]. В составе молекулярного комплекса с пектином, было выявлено менее выраженное ulcerогенное и токсическое действие ацетилсалициловой кислоты. При этом анальгезирующие свойства комплекса пектина с

аспирином были сопоставимы с таковыми для исходного препарата в эквимолярных дозах [7].

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) являются широко используемыми лекарственными препаратами на рынке лекарств. Однако, применение НПВС часто сопровождается проявлением побочных эффектов, среди которых наиболее распространенным является негативное воздействие на слизистую желудочно-кишечного тракта [8]. В связи с этим, научное направление, связанное как с разработкой новых молекул, перспективных в качестве НПВС [9, 10], так и с созданием менее токсичных лекарственных форм известных НПВС является высоко актуальным.

Диклофенак - один из наиболее популярных в мире и часто назначаемых анальгетиков группы НПВС [11]. Однако, для Диклофенака описаны побочные эффекты, основным из которых является раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт. В связи с этим, известен ряд работ, направленных на модификацию лекарственной формы Диклофенак с целью снижения его токсичности, побочных эффектов и улучшения доставки в организм [12, 13].

Целью настоящего исследования было получение молекулярного комплекса пектина с НПВС Диклофенак и изучение некоторых его биологических свойств в сравнении с исходным препаратом.

## Экспериментальная часть

### Исходные реагенты

Пектин цитрусовый марки "Classic C-401" производства фирмы "Herbstreith & Fox" (Германия), степень этерификации (СЭ) 65%; субстанция Diclofenac sodium salt (Sigma-Aldrich), действующее вещество Диклофенак.

### ИК спектроскопические исследования

Для контроля образования молекулярного комплекса пектина с Диклофенаком (комплекса I) методом ИК спектроскопии исследовали образцы пектина, Диклофенака и комплекса I и сравнивали их максимумы поглощения. ИК спектры образцов были сняты в таблетках KBr на ИК-Фурье спектрофотометре Tensor-27 фирмы Bruker с разрешением  $1 \text{ см}^{-1}$  в диапазоне  $400\text{-}4000 \text{ см}^{-1}$ .

### Лабораторные животные

Фармако-токсикологические исследования были выполнены на лабораторных животных – аутбредных белых мышах ICR (CD-1) и крысах Wistar, приобретенных в НПП Питомник лабораторных животных ФИБХ РАН (Пушино). Животных содержали в соответствии с [14] в стандартных условиях вивария с 12-часовым световым днем и неограниченным доступом к еде и воде. В качестве корма использовали полнорационный гранулированный корм для грызунов с содержанием белка 22%, клетчатки не более 4%, жира не более 5%, золы не более 9%, влажности не более 13.5%, калорийностью 295 ккал/100 г.

### Оценка острой токсичности

Острую токсичность молекулярного комплекса I сравнивали с таковой лекарственной субстанции

препарата Диклофенак (Sigma-Aldrich) в эквимолярных дозах. Исследование выполняли на белых мышах в соответствии с [15]. Для определения острой токсичности вещества вводили белым лабораторным мышам однократно перорально в виде водных растворов, приготовленных непосредственно перед введением. Для каждой дозы были использованы группы по 8 мышей. В течение 5 дней наблюдали за состоянием животных. Субстанцию Диклофенак вводили в дозах 300, 350, 375, 400, 425, 450 и 500 мг/кг. Для введения комплекса I использовали гелеобразный водный раствор комплекса с концентрацией 4.7%, который вводили мышам из расчета 0.665 и 0.9 мл на 10 г массы тела. Вводимые дозы комплекса, соответственно, были 3125.5 и 4230 мг/кг, эквимолярные дозам Диклофенака 500 и 677 мг/кг. Расчет токсичности проведен в программе «R» version 2.13.0 (2011-04-13).

### Метод оценки ulcerогенных свойств

Исследование ulcerогенного действия комплекса I при многократном введении было выполнено на белых мышах в сравнении с субстанцией Диклофенак. Оба вещества вводили мышам перорально в течение 10 дней: Диклофенак в эффективной дозе 5 мг/кг, комплекс пектина с Диклофенаком в эквимолярной дозе 31.25 мг/кг. Контрольной группе вводили воду в эквивалентном объеме. Ulcerогенное действие комплекса I также было исследовано при однократном введении в дозе 3125.5 мг/кг, эквимолярной дозе Диклофенака ЛД<sub>100</sub> (500 мг/кг). По окончании введения препаратов, мышей выводили из опыта методом цервикальной дислокации, извлекали желудок, разрезали по малой кривизне, очищали содержимое, промывали физраствором и исследовали под бинокулярным микроскопом с цифровой камерой Nikon. В каждой группе было по 4 или 5 мышей. Оценку ulcerогенного действия проводили по 4-бальной шкале: 0 – отсутствие повреждений; 0.5 – минимальные повреждения, незначительная гиперемия; 1 – единичные незначительные повреждения (1 или 2 точечных кровоизлияния); 2 – множественные повреждения (эрозии, точечные кровоизлияния); 3 – значительные и множественные повреждения слизистой (эрозии, кровоизлияния); 4 – грубые повреждения, охватывающие всю поверхность слизистой (массивные кровоизлияния, эрозии, перфорации).

### Метод исследования противовоспалительных свойств

Для комплекса I в сравнении с препаратом Диклофенак были изучены противовоспалительные свойства на модели отека, индуцированного каррагином у крыс. Опыт выполнен на самцах крыс Wistar в возрасте 2.5-3 месяца массой 200-230 г. В каждой группе было по 6 животных. До начала опыта, у животных измеряли исходные параметры – объем правой задней лапы с помощью плетизмометра Ugo Basile, уровень болевой чувствительности в тесте «горячая пластина» на приборе Hotplate 602000 (TSE-Systems) при температуре пластины 55 °C и показатели крови –

общее число лейкоцитов (WBC), лимфоцитов (LYM), моноцитов (MON) и гранулоцитов (GRA) и долю лимфоцитов (LYM%), моноцитов (MON%), гранулоцитов (GRA%) в % к общему количеству лейкоцитов на автоматическом гематологическом анализаторе Mythic 18 Vet и скорость оседания эритроцитов (СОЭ) по методу Панченкова. Затем крысам вводили 1%-й водный раствор каррагинана под плантарный апоневроз правой задней лапы. Через 30 минут однократно перорально вводили исследуемые препараты в виде водных растворов: Диклофенак в дозах 5 и 10 мг/кг (группы 2 и 4) и комплекс I в эквимольных дозах 31.25 и 62.5 мг/кг (группы 3 и 5 соответственно). Контрольная группа 1 подвергалась воздействию каррагинана аналогичным способом, но не получала каких-либо препаратов.

Объем лапы, уровень болевой чувствительности в тесте Hot Plate и показатели крови исследовали через 2, 5 и 24 часа.

Статистическую обработку всех цифровых данных проводили в программе Origin Pro. По каждой выборке рассчитывали средние значения и стандартную ошибку, сравнение между группами выполняли по t-тесту Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

*Синтез молекулярного комплекса пектина с субстанцией препарата Диклофенак*

Синтез молекулярного комплекса пектина с Диклофенаком (комплекса I) проводили согласно схеме (рис. 1), руководствуясь методологией, описанной в работах [16, 17].

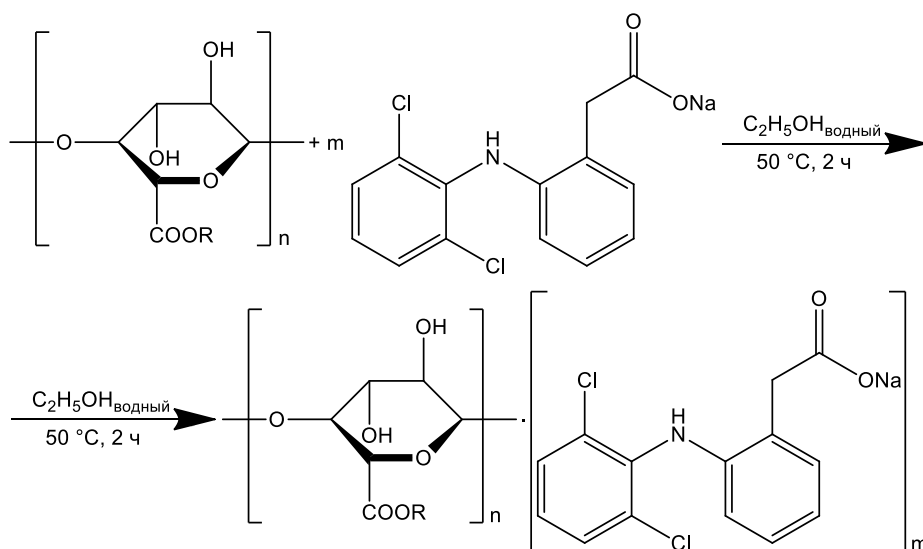


Рис. 1 – Схема синтеза молекулярного комплекса пектина с Диклофенаком

Для осуществления синтеза в колбу наливали 300 мл 2% водного раствора пектина, добавляли 100 мл 1.05% раствора Диклофенака в 60% водном этаноле и проводили синтез на магнитной мешалке при температуре 60 °С в течение 2 часов при постоянном перемешивании. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и определяли некоторые характеристики исходных растворов и реакционной среды (рН, плотность), которые приведены в таблице 1.

Далее, колбу с реакционной смесью помещали в холодильник при температуре +4-6 °С. Через 10-12 часов на дне колбы наблюдали выпадение осадка, для растворения которого добавляли 60 мл 96% этилового спирта и перемешивали на магнитной мешалке без нагрева в течение ~ 5 ч, после чего осадок не появлялся. Полученный целевой комплекс I осадил из раствора 700 мл этанола, отделили осадок центрифугированием и промыли этанолом. Затем его высушили в термостате при температуре 55 °С и измельчили на шаровой мельнице. Масса полученного комплекса составила 4.147 г. Содержание Диклофенака в комплексе составляло 16%. Для 0.5 и 0.25% растворов комплекса I определяли кинематическую вязкость, оптические свойства. Оптические свойства комплекса I были

исследованы методом поляриметрии, кинематическую вязкость определяли с использованием вискозиметра Оствальда (0.56 мм,  $K = 0.009820 \text{ мм}^2/\text{с}^2$ ).

Таблица 1 - Характеристика растворов исходных соединений и полученного комплекса I

Образец	рН	Плотность, г/мл
2% раствор пектина	3.656 (18.9 °С)	1.005
60% водный этанол	7.107	1.005
1.05% раствор Диклофенака в водном этаноле	8.680 (27.4 °С)	0.913
Раствор комплекса I в реакционной смеси	4.647 (25.5 °С)	0.983
0.5% раствор комплекса I	4.163 (29.6 °С)	-

Результаты исследования кинематической вязкости и оптических свойств 0.5 и 0.25% растворов полученного целевого комплекса I

приведены в таблице 2. Было показано, что вязкость 0.5% раствора составляет 4.288 мм<sup>2</sup>/с, 0.25% раствора – 2.595 мм<sup>2</sup>/с. Результаты исследования оптических свойств показали, что комплекс I оптически активен, угол вращения составляет +(220-250)°. При этом показатели относительной оптической активности комплекса I одинаковы для 0.5% и 0.25% растворов.

**Таблица 2 - Кинематическая вязкость и оптические свойства растворов комплекса I**

Образец	Кинематическая вязкость, мм <sup>2</sup> /с	$[\alpha]_D^{20}$ (поляриметрия)
0.5% раствор комплекса I	4.288	+(220-250)
0.25% раствор комплекса I	2.595	+(220-250)

Для доказательства образования целевого комплекса I исследовали состояние карбоксильных групп методом ИК спектроскопии в области валентных колебаний группы COO<sup>-</sup> (1600-1800 см<sup>-1</sup>). В результате анализа выявлено наличие в ИК спектре комплекса I полос поглощения с максимумами 1751, 1696 и 1618 см<sup>-1</sup>, отличающихся от таковых для чистого пектина 1746 и 1637 см<sup>-1</sup> и для Диклофенака, не имеющего максимумов поглощения в исследуемой области. Данные результаты доказывают получение целевого продукта синтеза - комплекса пектина с Диклофенаком.

*Показатели острой токсичности Диклофенака и комплекса I*

В результате исследования острой токсичности Диклофенака было показано, что полумлетальная доза ЛД<sub>50</sub> = 393.00 мг/кг (369.31 ÷ 415.16), летальная ЛД<sub>100</sub> = 492.50 мг/кг.

В дозе 3125.5 мг/кг, эквимолярной дозе Диклофенака ЛД<sub>100</sub> (500 мг/кг), комплекс I оказался не токсичен, т.к. не приводил к гибели животных. В дозе 4230 мг/кг, эквимолярной 677 мг/кг Диклофенака, под действием комплекса I пала 1 мышь, т.е. смертность составила 16.7%. Из полученных результатов следует, что образование комплекса пектина с Диклофенаком привело к существенному снижению токсичности препарата Диклофенак.

*Ульцерогенные свойства комплекса пектина с Диклофенаком*

В результате исследования ульцерогенного действия комплекса I при однократном введении мышам в дозе 3125.5 мг/кг, эквимолярной дозе Диклофенака ЛД<sub>100</sub> (500 мг/кг) не было выявлено каких-либо признаков раздражения, гиперемии, язв на слизистой желудка. То есть, комплекс I в дозе 3125.5 мг/кг оказался не только не токсичен, но и при однократном пероральном введении не проявлял признаков негативного воздействия на желудок.

В результате исследования состояния слизистой желудка было показано, что в контрольной группе,

которой в течение 10 дней вводили воду, наблюдали отсутствие признаков гиперемии у всех 5 исследованных мышей, основная часть слизистой желудка бледно-розового цвета, без проявления усиления сосудистого рисунка («звездочек»). Лишь выявлены очень небольшие участки слизистой с проявлением локального усиления сосудистого рисунка. Степень повреждения слизистой желудка в контрольной группе в среднем составляла 0.3 ± 0.2 балла. В группе мышей, которым в течение 10 дней вводили Диклофенак в дозе 5 мг/кг, у всех животных наблюдались признаки гиперемии и усиления сосудистого рисунка («звездочек») на большей части внутренней поверхности тела желудка, наибольшие изменения – в нижнем отделе по малой кривизне желудка. В области верхнего отдела (дна желудка) каких-либо патоморфологических изменений под действием препарата не выявлено. Степень повреждения слизистой желудка в среднем составила 2.0 ± 0.4 балла (повышение статистически достоверно при p < 0.05). В группе, которой вводили комплекс I в дозе 31.25 мг/кг, эквимолярной 5 мг/кг Диклофенака, у всех животных признаки гиперемии были менее выражены по сравнению с группой, которой вводили Диклофенак. Состояние слизистой мало отличалось от контрольной группы. Степень повреждения слизистой желудка можно оценить как 0.5 ± 0.2 балла (различия с контрольной группой статистически достоверны при p < 0.05).

*Противовоспалительные свойства комплекса I в сравнении с Диклофенаком*

Как следует из рисунка 2, через 2 часа после введения каррагинана объем лапы у контрольных животных увеличивался на 62%. Через 5 часов объем лапы превышал исходный уровень на 54%, а через 24 часа – на 1.5%.

Во всех опытных группах через 2 часа объем лапы был достоверно меньше, чем в контроле. Комплекс I в дозах 31.25 и 62.5 мг/кг проявил равноценный эффект по сравнению с препаратом Диклофенак в эквимолярных дозах 5 и 10 мг/кг. Однако через 5 часов достоверное снижение объема лапы наблюдалось лишь в группах, которым вводили Диклофенак. При этом объем лапы в группах, получавших Диклофенак, через 5 ч снижался по сравнению с показателями через 2 ч. В группе, которой вводили Диклофенак в дозе 5 мг/кг, объем лапы составлял 139.6 ± 8.9 и 131.4 ± 10.7 % от исходного уровня через 2 и 5 ч соответственно, а при введении Диклофенак дозе 10 мг/кг - 136.2 ± 3.7 и 129.9 ± 7.5 %, соответственно. В группах, которым вводили комплекс I, объем лапы через 5 ч не уменьшался по сравнению с показателем через 2 ч. Так, при введении комплекса I в дозе 31.25 мг/кг объем лапы составил 142.5 ± 4.5 и 141.6 ± 7.9 % через 2 и 5 ч соответственно, а при введении комплекса I в дозе 62.5 мг/кг - 139.8 ± 5.1 и 143.1 ± 12.1 % (рис. 2). Через 24 часа во всех опытных группах объем лапы не превышал исходный уровень, то есть, отек полностью пропал.

На уровень болевой чувствительности Диклофенак оказал равнозначный эффект как в дозе

5 мг/кг, так и в дозе 10 мг/кг, приводя к достоверному повышению порога болевой чувствительности по сравнению с контролем как через 2, так и через 5 ч. Комплекс I оказал достоверный эффект на болевую чувствительность лишь в максимальной дозе – 62.5 мг/кг, эквивалентной дозе Диклофенака 10 мг/кг. При этом через 2 ч обезболивающий эффект комплекса I был равнозначен таковому Диклофенака, а через 5 ч Диклофенак в эквивалентной дозе 10 мг/кг был более эффективен (рис. 3). Через 24 ч в контрольной группе порог болевой чувствительности оставался ниже исходного уровня и составлял 95.8%. Во всех опытных группах, которым вводили Диклофенак или комплекс I, уровень болевой чувствительности полностью восстанавливался до исходных значений (рис. 3).

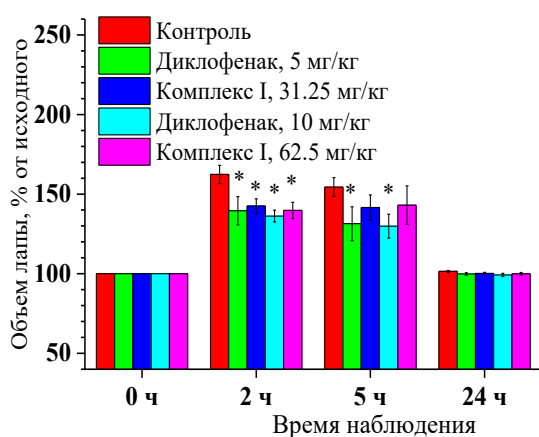


Рис. 2 – Влияние Диклофенака и комплекса I на выраженность отека, индуцированного каррагинаном. \* - различия с соответствующими показателями в контрольной группе статистически достоверны при  $p < 0.05$

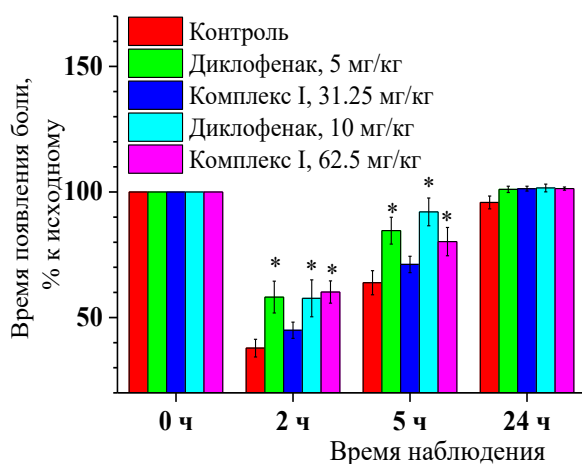


Рис. 3 – Влияние Диклофенака и комплекса I на уровень порога болевой чувствительности в тесте «горячая пластина». \* - различия с соответствующими показателями в контрольной группе статистически достоверны при  $p < 0.05$

Таким образом, в результате проведенного исследования был получен молекулярный комплекс пектина с НПВС Диклофенак. Образование

комплекса доказано методом ИК-спектроскопии. Изучены некоторые физико-химические характеристики полученного комплекса. Было показано, что комплексобразование пектина с Диклофенаком приводит к значительному снижению токсичности и ulcerогенного действия на желудок НПВС Диклофенака.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-013-01177

## Литература

- Хамзина Л.Ф., Трескова В.И., Никитина Л.Е., Гараева М.Р., Стрекалова Г.Р., Шипина О.Т. Структурная организация и термостойкость композитов на основе микрокристаллической целлюлозы // Вестник технологического университета. 2020. Т. 23, № 6. – С. 68-72.
- Черепанов И.С. Синтез и изучение рострегулирующей активности N-карбоксибензил-L-рамнозиламинов // Вестник технологического университета. 2020. Т. 23, № 2. – С. 5-8.
- Шилова С.В., Миргалеев Г.М., Рокунова В.И., Третьякова А.Я., Барабанов В.П. Полиэлектролитные капсулы на основе хитозана и пектина // Вестник технологического университета. 2019. Т. 22, № 5. – С. 80-83.
- Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Выштакалюк А.Б., Цапаева О.В., Миндубаев А.З., Миронова Л.Г., Губайдуллин А.Т., Зобов В.В., Ланцова А.В., Петрова Г.Р., Зиягдинова Ф.Х., Коновалов А.И. Получение комплексов пектиновых полисахаридов с дикарбоновыми кислотами // Доклады Академии наук. 2010. Т. 434, № 3. - С. 356-360.
- Минзанова С.Т., Выштакалюк А.Б., Цапаева О.В., Миронова Л.Г., Миронов В.Ф., Зобов В.В. Патент РФ на изобретение № 2503455. Комплекс пектинового биополимера с ацетилсалициловой кислотой // Бюл. № 1. Оpubл. 10.01.2014.
- Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Выштакалюк А.Б., Цапаева О.В., Миронова Л.Г., Рыжкина И.С., Муртазина Л.И., Губайдуллин А.Т. Комплексы пектинового полисахарида с ацетилсалициловой кислотой // Доклады Академии наук. 2013. Т. 452, № 2. - С. 177-180.
- Vyshtakalyuk A.B., Bushmeleva K.N., Lenina O.A., Gumarova L.F., Minzanova S.T., Parfenov A.A., Belyaev G.P., Mironova L.G., Chekunkov E.V., Zobov V.V. Anti-inflammatory effect of the molecular pectin complex with acetylsalicylic acid on a model of carrageenan edema of rats // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2020. Vol. 11, Is. 4. - P. 1581-1591.
- Заводовский Б.В. Влияние нестероидных противовоспалительных препаратов на сердечно-сосудистую систему // Кардиология. 2015. Т. 55, № 7. - С. 84-88.
- Kavitha T., Velraj G. Density functional theory analysis and molecular docking evaluation of 1-(2, 5-dichloro-4-sulphophenyl)-3-methyl-5-pyrazolone as COX2 inhibitor against inflammatory diseases // Journal of Molecular Structure. 2017. Vol. 1141. - P 335-345.
- Lino R.C., da Silva D.P.B., Florentino I.F., da Silva D.M., Martins J.L.R., Batista D. da C., Leite K.C. de S., Villavicencio B., Vasconcelos G.A., Silva, A.L.P., de Ávila R.I., Verli H., Valadares M.C., Gil E. de S., Vaz B.G., Lião L.M., Menegatti R. and Costa E.A. Pharmacological evaluation and molecular docking of new di-tert-butylphenol compound, LQFM-091, a new dual 5-

- LOX/COX inhibitor* // European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017. Vol. 106. - P. 231-243.
11. Gan T.J. *Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile* // Current Medical Research & Opinion. 2010. Vol. 26, No. 7. - P. 1715-1731.
  12. Md S., Alhakamy N.A., Aldawsari H.M., Kotta S., Ahmad J., Akhter S., Alam M.S., Khan M.A., Awan Z., Sivakumar P.M. *Improved Analgesic and Anti-Inflammatory Effect of Diclofenac Sodium by Topical Nanoemulgel: Formulation Development-In Vitro and In Vivo Studies* // Journal of chemistry. 2020, April 21. Article ID 4071818. - P. 1-10. <https://doi.org/10.1155/2020/4071818>
  13. Ozturk A.A., Namli I., Gulec K., Kiyan H.T. *Diclofenac sodium loaded PLGA nanoparticles for inflammatory diseases with high anti-inflammatory properties at low dose: Formulation, characterization and in vivo HET-CAM analysis* // Microvascular research. 2020. Vol. 190. Article No 103991. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.103991>
  14. Commission Recommendation of 18 June 2007 on guidelines for the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes (2007/526/EC) // Official Journal of the European Union. 2007. July 30. L 197. - P. 1-89.
  15. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепяхин В.К., Коробов Н.В., Меркулов В.А., Орехов С.Н., Сакаева И.В., Утешев Д.Б., Яворский А.Н. *Руководство Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.* 2012. М.: Гриф и К. - 944 с.
  16. Чекунков Е.В., Минзанова С.Т., Хабибуллина А.В., Архипова Д.М., Миронова Л.Г., Немтарев А.В., Хаматгаллимов А.Р., Губайдуллин А.Т., Миллюков В.А. *Новые комплексы пектиновых полисахаридов с нестероидными противовоспалительными средствами* // Известия Академии наук. Серия химическая. 2020. № 3. - С. 572-580.
  17. Минзанова С.Т., Чекунков Е.В., Миллюков В.А., Миронова Л.Г., Хабибуллина А.В., Архипова Д.М., Самигуллина А.И., Губайдуллин А.Т., Миронов В.Ф. *Получение, состав и физико-химические свойства комплексов пектина с ибупрофеном* // Доклады Российской академии наук. Химия, науки о материалах. 2020. Т. 491. - С. 49-54.

© **А. Б. Выштакалюк** - д.б.н., ст. науч. сотр. лаб. химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН» и профессор Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, alex.vysh@mail.ru; **С. Т. Минзанова** – к.т.н., старший научный сотрудник технологической лаборатории ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», minzanova@iopc.ru; **Е. В. Чекунков** – аспирант ФИЦ «Казанский научный центр РАН» и младший научный сотрудник технологической лаборатории ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН»; **О. А. Леннина** – младший научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», leninaox@mail.ru; **Л. Ф. Гумарова** – ведущий зоотехник лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», multiklilya@mail.ru; **Г. П. Беляев** - аспирант ФИЦ Казанского научного центра РАН и лаборант лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», gregoir4@gmail.com; **Д. Ф. Абрамова** – магистрант кафедры пищевой биотехнологии и лаборант лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», dinara.gumarowa@yandex.ru; **А. А. Парфенов** - аспирант ФИЦ «Казанский научный центр РАН» и младший научный сотрудник лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», aimt66@gmail.com; **Л. Р. Хасаншина** - аспирант ФИЦ «Казанский научный центр РАН» и лаборант лаборатории химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», leylaha96@gmail.com; **К. Н. Бушмелева** - аспирант и младший научный сотрудник ФИЦ «Казанский научный центр РАН», ks.bushmelewa09@ya.ru; **Л. Г. Миронова** – инженер исследователь технологической лаборатории ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН», mironoval1963@gmail.com; **В. В. Зобов** – главный научный сотрудник, заведующий лабораторией химико-биологических исследований ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ «Казанский научный центр РАН» и профессор Института экологии и природопользования Казанского (Приволжского) федерального университета, zobov@iopc.ru

© **А. В. Vyshtakalyuk** - Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS and Professor of the Institute of Fundamental Medicine and Biology of Kazan (Volga Region) Federal University, alex.vysh@mail.ru; **S. T. Minzanova** – PhD in technical sciences, Senior Researcher, Technological Laboratory of Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, minzanova@iopc.ru; **E. V. Chekunkov** - PhD student and Junior Researcher, Technological Laboratory of Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS; **O. A. Lenina** - Junior Researcher, Laboratory of Neurophysiology, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, leninaox@mail.ru; **L. F. Gumarova** - Leading Livestock Technician, Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, multiklilya@mail.ru; **G. P. Belyaev** - PhD student and a laboratory assistant, Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, gregoir4@gmail.com; **D. F. Abramova** - undergraduate student of the Department of Food Biotechnology of Kazan National Research Technological University and laboratory assistant of Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, dinara.gumarowa@yandex.ru; **A. A. Parfenov** – PhD student and Junior Researcher, Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, aimt66@gmail.com; **L. R. Khasanshina** – PhD student and a laboratory assistant, Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, leylaha96@gmail.com; **K. N. Bushmelewa** – PhD student and Junior Researcher, the Federal Research Center of the Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences ks.bushmelewa09@ya.ru; **L. G. Mironova** - Engineer Researcher, Technological Laboratory, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS, mironoval1963@gmail.com; **V. V. Zobov** - Chief Researcher, Head of the Laboratory of Chemical and Biological Research, Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center of the RAS and Professor of the Institute of Ecology and Nature Management of the Kazan (Volga Region) Federal University, zobov@iopc.ru.