

УДК 53.091:54+615.31+615.4.3+547.458.81

DOI: 10.15372/ChUR20180517

Получение и биологическая активность механокомпозитов пироксикама с хитозаном различной молекулярной массы

Т. П. ШАХТШНЕЙДЕР^{1,2}, С. А. МЫЗЬ¹, А. С. МЕДВЕДЕВА³, Л. П. САФРОНОВА³, Т. М. КОНЬШИНА⁴,
А. А. БУРЛУЦКАЯ⁴, Г. В. ГОЛДОБИНА⁴

¹Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения РАН,
Новосибирск (Россия)

E-mail: shah@solid.nsc.ru

²Новосибирский государственный университет,
Новосибирск (Россия)

³Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского Сибирского отделения РАН,
Иркутск (Россия)

⁴Пермский государственный медицинский университет им. ак. Е. А. Вагнера,
Пермь (Россия)

Аннотация

Получены механокомпозиты пироксикама с хитозаном различной молекулярной массы, обладающие повышенной скоростью выделения пироксикама в раствор. Изучена противовоспалительная и анальгетическая активность полученных композитов. По сравнению с пироксикамом механокомпозиты пироксикам–хитозан обладают более высокой обезболивающей активностью.

Ключевые слова: пироксикам, хитозан, механокомпозиты, механохимическая активация, анальгетическая активность

ВВЕДЕНИЕ

Пироксикам является представителем серии N-гетероциклических карбоксамидов, относится к классу оксикамов и широко используется в медицине в качестве нестероидного обезболивающего, жаропонижающего, противовоспалительного средства [1]. В настоящее время пироксикам применяется в качестве альтернативы опиоидных анальгетиков в послеоперационный период [2], а также в химиотерапии рака [3–6]. Недавно было показано, что пироксикам проявляет также и противоопухолевую активность [7].

Пироксикам имеет хорошие характеристики проницаемости через мембраны, но из-за низкой растворимости в воде (0.003 % при

pH 5, 37 °C) медленно растворяется в желудочно-кишечном тракте и потому может оказывать раздражающее действие. Недавно мы получили водорастворимый биоконъюгат пироксикама и сульфата арабиногалактана с высокой противовоспалительной активностью [8]. Для увеличения скорости растворения и растворимости пироксикама получают также твердые дисперсные системы с использованием различных методов и вспомогательных веществ, среди которых как водорастворимые полимеры, так и неорганические носители [9–16].

Хитозан – линейный полисахарид, макромолекулы которого состоят из случайно связанных β-(1-4) D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамина, является сильным комплексообразователем за счет амино- и гид-

роксильных групп. В последнее время хитозан активно исследуется как носитель лекарственных веществ. Например, в работах [17, 18] описывается получение комплексов с хитозаном противоопухолевых средств доксорубицина, тамоксифена [17], норкантаридина [18]. Механохимическим методом (измельчение в керамической шаровой мельнице, 24 ч) получены смеси пироксикама с хитином и хитозаном (1 : 2 по массе), обладающие повышенной скоростью выделения лекарственного вещества в раствор (рН 1.2) по сравнению с физическими смесями исходных компонентов [9]. Показано, что совместное измельчение приводит к аморфизации пироксикама и способствует повышению скорости растворения, а изменения в ИК-спектрах свидетельствуют о взаимодействии компонентов. Увеличение скорости растворения в случае физических смесей компонентов относительно исходного пироксикама авторы связывают с улучшенной смачиваемостью лекарственного вещества.

Ранее мы использовали хитозан, полученный из хитина рачка – бокоплава *Gammarus* алтайский со среднемассовой молекулярной массой $1.6 \cdot 10^6$ [13]. Показано, что в результате механической активации (МА) хитозана его молекулярная масса уменьшается до $5 \cdot 10^3$ в результате механокрекинга макромолекулярных цепей биополимера. Механоактивированный хитозан проявил повышенную, хотя и незначительно, растворимость в воде ($0.6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл). Изменения в ИК-спектрах свидетельствовали о взаимодействии пироксикама с хитозаном и образовании водородных связей между гидроксильными и аминными группами макромолекул биополимера и функциональными группами лекарственного вещества. Скорость растворения пироксикама из механоактивированных смесей и концентрация его в растворе превышали таковые как для исходного, так и механоактивированного лекарственного вещества. Наибольшая растворимость пироксикама наблюдалась в случае физических смесей механоактивированных компонентов. Предположительно, это связано с образованием растворимых в воде комплексов пироксикама с хитозаном. Они могут образовываться как при МА смеси, так и при растворении механоактивированных компонентов в водном растворе.

Улучшение биодоступности и клинической эффективности плохо растворимых в воде липофильных лекарств при пероральном введении имеет актуальное значение. В ряде работ [19–21] отмечалось, что использование низкомолекулярного хитозана дает лучшие результаты для повышения растворимости и биодоступности препаратов.

Цель работы – получение механокомпозигов пироксикама с хитозаном различной молекулярной массы и изучение их свойств, в том числе фармакологической активности, в зависимости от условий получения и состава механокомпозигов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Химическая

Субстанция пироксикама синтезирована в Иркутском институте химии им. А. Е. Фаворского СО РАН по оригинальной технологии [22, 23]. Для исследований использовали “высокомолекулярный хитозан” (ВМХ) – хитозан (ТУ 9289-058-04689375) фирмы ООО “Инвест-Фарм” (Москва, Россия) с молекулярной массой $M_w = 460$ кДа, степенью деацетилирования 98 %, и “низкомолекулярный хитозан” (НМХ) – хитозан фирмы ЗАО “Биопрогресс” (Московская обл., Россия) с молекулярной массой $M_w = 39$ кДа, степень деацетилирования 79 %.

Механическую обработку смесей пироксикама с хитозаном в массовых соотношениях пироксикам/хитозан, равных 1 : 3 и 1 : 10, проводили с использованием двух различных шаровых мельниц: мельницы SPEX 8000 (CertiPrepInc, США) и планетарно-центробежной мельницы АГО-2 (ИХТТМ, Россия) с водяным охлаждением барабанов. Условия обработки в мельнице SPEX-8000: стальной барабан объемом 60 мл, диаметр шаров 6 мм, отношение массы навески к массе шаровой загрузки 1 : 15, нагрузка на шар 8–10g. Условия обработки в мельнице АГО-2: стальные барабаны объемом 40 мл, диаметр шаров 6 мм, отношение массы навески к массе шаровой загрузки 1 : 30, нагрузка на шар – 20g. Время обработки – 15 мин. Для предотвращения загрязнения образцов в результате натирания железа проводили футеровку барабанов

и шаров, загружая непосредственно перед экспериментом в барабаны небольшое количество лекарственного вещества (ЛВ) и проводя обработку в течение 2 мин.

Рентгенофазовый анализ проводили с использованием дифрактометра D8 DISCOVER GADDS с двухкоординатным детектором Hi-Star фирмы Bruker (Германия), CuK_α -излучение, и STADI MP (STOE & Cie GmbH, Германия), CuK_α -излучение, $2\theta = 5-65^\circ$.

ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) в диапазоне частот $4000-580 \text{ см}^{-1}$ снимали с разрешением 4 см^{-1} на Фурье ИК-спектрометре Digilab Excalibur 3100 (США) с использованием приставки НПВО фирмы Pike с кристаллом ZnSe без специальной подготовки образцов.

Скорость растворения и растворимость ЛВ измеряли с помощью аппарата Varian 705 DS, предназначенного для испытания растворения фармацевтических субстанций, в том числе таблеток и капсул. Скорость растворения ЛВ изучали следующим образом (метод 1). Навеску образца с размерами частиц $125-315 \text{ мкм}$ (классификацию проводили с помощью сит), содержащую недостаток пироксикама по отношению к его равновесной концентрации (растворимости), помещали в термостатированный при $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ стеклянный стакан, снабженный механической мешалкой со скоростью вращения 100 об/мин . Исследование динамики растворения проводили в буферном растворе pH 6.86, объем растворителя – 130 мл. Отбор проб проводили через определенные интервалы времени по 3.5 мл анализируемого раствора, такой же объем соответствующего раствора добавляли в среду растворения для сохранения объема. Полученные пробы фильтровали через бумажный фильтр “синяя лента”. Количественный анализ проводили методом УФ-спектрофотометрии. Оптическую плотность проб измеряли с помощью спектрофотометра Cary 50 Scan (Varian, США) при длине волны $358-365 \text{ нм}$ в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали разбавленный раствор хитозана ($7 \cdot 10^{-2} \text{ мг/мл}$).

Растворимость ЛВ изучали следующим образом (метод 2). Навеску (размер частиц $\leq 125 \text{ мкм}$), содержащую избыток пироксикама, помещали в термостатированный стеклян-

ный стакан с 250 мл воды при температуре $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, снабженный механической мешалкой со скоростью вращения 250 об/мин . Отбор проб (3.5 мл) проводили по истечении 1 сут. Оптическую плотность проб измеряли с помощью спектрофотометра Cary 50 Scan (Varian, США) при длине волны $358-365 \text{ нм}$ в кювете с толщиной слоя 10 мм. Калибровку спектрофотометра по пироксикаму проводили путем измерения растворов с разной концентрацией вещества и построения калибровочной кривой. Все эксперименты проводили трижды.

Определение количественного содержания пироксикама в механокомпозиатах, для которых изучена биологическая активность, выполнено методом потенциометрического титрования (иономер универсальный ЭВ-74) раствором 0.1 M HCl в метаноле, в качестве индикаторного электрода применяли стеклянный, а в качестве электрода сравнения – хлорсеребряный. Параллельно проводили контрольный опыт.

Фармакологическая

Противовоспалительную активность (ПВА) механокомпозиатов пироксикама с хитозаном изучали на классической модели острого каррагенинового отека задней лапы у беспородных белых крыс массой $190-220 \text{ г}$. Исследуемые образцы вводили за 1 ч до индукции воспаления через зонд в желудок в дозе 5 мг/кг в пересчете на чистый пироксикам. Низкомолекулярный хитозан вводили в дозе 55 мг/кг , с учетом вводимой дозы механокомпозиата пироксикам – НМХ (1 : 10). Для воспроизведения отека субплантарно крысам вводили $0.1 \text{ мл } 1\% \text{ раствора каррагенина}$. Онкометрическим методом измеряли объем лап исходный и на высоте воспаления – через 3 и 5 ч после введения флогогена. Выраженность ПВА определяли по способности исследуемых соединений предотвращать отек по сравнению с контролем.

Анальгетическую активность изучали на классической модели “уксусных корчей” у белых беспородных мышей массой $20-35 \text{ г}$. Исследуемые образцы вводили через зонд в желудок за 1 ч до внутрибрюшинного введе-

ния 0.25 мл 0.75 % раствора уксусной кислоты. Подсчитывали количество корчей в течение 15 мин после введения альгогена. Об анальгетической активности судили по уменьшению их числа по сравнению с контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате МА смесей пироксикама как с ВМХ, так и НМХ в мельницах SPEX 8000 и АГО-2 не происходит полной аморфизации ЛВ. При этом рефлексы на рентгенограммах уширяются (рис. 1), что указывает на частичное разупорядочение кристаллической структуры ЛВ.

В ИК-спектрах образцов (рис. 2), полученных в обеих мельницах, по сравнению со смесью компонентов, активированных по отдельности, наблюдаются изменения в области валентных N-H (3340 см^{-1}), C=O (1631 см^{-1}), C=N (1531 см^{-1}), а также деформационных O-H (1093 см^{-1}) колебаний, что говорит о взаимодействии компонентов при механической обработке и возможном образовании механокомпозитов.

На рис. 3 приведены кривые выделения пироксикама в раствор из смесей с ВМХ. Видно, что уже при растворении физической смеси исходных компонентов (кривая 2) концен-

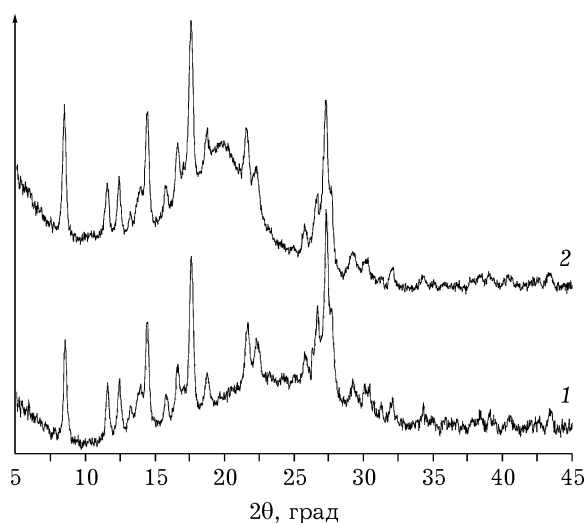


Рис. 1. Рентгеновские дифрактограммы обработанных в мельнице АГО-2 смесей пироксикама с низкомолекулярным (1) и высокомолекулярным (2) хитозаном.

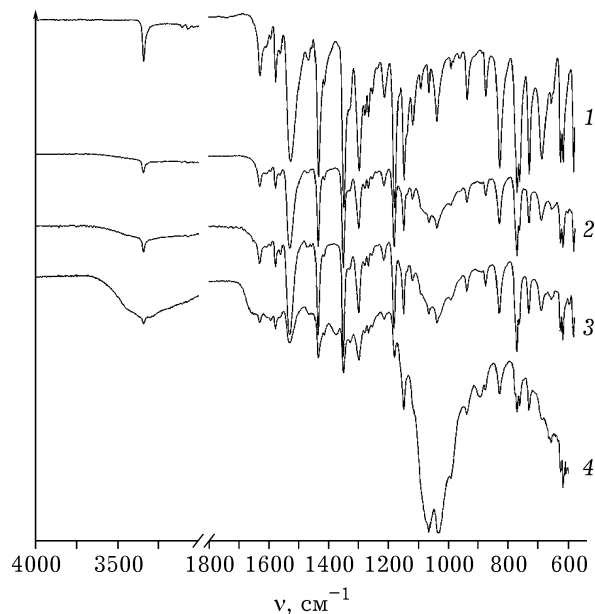


Рис. 2. ИК-спектры НПВО: 1 — исходный пироксикам; 2, 3 — смеси пироксикама, обработанные в мельнице SPEX 8000 с низкомолекулярным (2) и высокомолекулярным (3) хитозаном; 4 — физическая смесь пироксикама и высокомолекулярного хитозана, обработанных в мельнице SPEX 8000 по отдельности.

трация пироксикама в растворе выше, чем растворимость чистого ЛВ (кривая 1), что связано, по-видимому, с образованием в растворе комплексов пироксикама с хитозаном. Этот

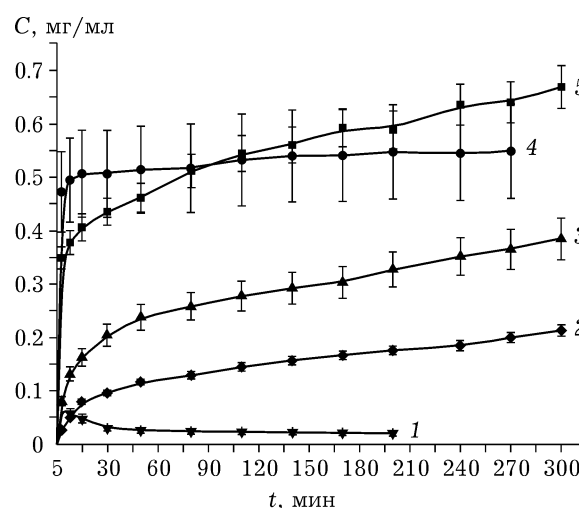


Рис. 3. Кривые выделения пироксикама в раствор из смесей с хитозаном (1 : 3): 1 — МА-пироксикам; 2 — физическая смесь исходных компонентов; 3 — физическая смесь исходного пироксикама с МА-хитозаном; 4 — МА-смесь; 5 — физическая смесь МА-компонентов (МА проведена в мельнице АГО-2).

результат отличается от полученного в работе [13], когда использовали хитозан с более высокой молекулярной массой ($M_w = 1600$ кДа), и концентрация ЛВ в растворе в случае физической смеси компонентов практически совпадала с растворимостью исходного и МА-пироксикама. Причиной может быть агрегация в растворе макромолекул хитозана с высокой молекулярной массой, как это отмечали авторы [17], что препятствует образованию комплексов. С другой стороны, скорость образования комплексов в растворе зависит от скорости растворения отдельных компонентов и, следовательно, должна расти с уменьшением молекулярной массы биополимера. По-видимому, это и привело к росту концентрации пироксикама в растворе при растворении физической смеси с хитозаном, который обладает более низкой молекулярной массой по сравнению с использованным в работе [13]. Это подтверждает эксперимент с использованием механически активированного ВМХ: концентрация пироксикама в растворе еще выше (см. рис. 3, кривая 3), что также может быть связано с уменьшением молекулярной массы хитозана в результате механокрекинга цепей биополимера при МА.

Наибольшей растворимостью обладала физическая смесь активированных по отдельности компонентов (кривая 5). Тем не менее скорость перехода пироксикама в раствор в случае механокомпозиата (кривая 4) выше, чем в случае физической смеси механоактивированных компонентов. Более наглядно это выражено на рис. 4, где приведены кривые растворения при помещении в раствор образцов, содержащих недостаток пироксикама по отношению к его растворимости (метод 1). Пироксикам в ходе МА распределяется по поверхности хитозана, что способствует увеличению его поверхности и, следовательно, повышению скорости растворения. Кроме того, в случае

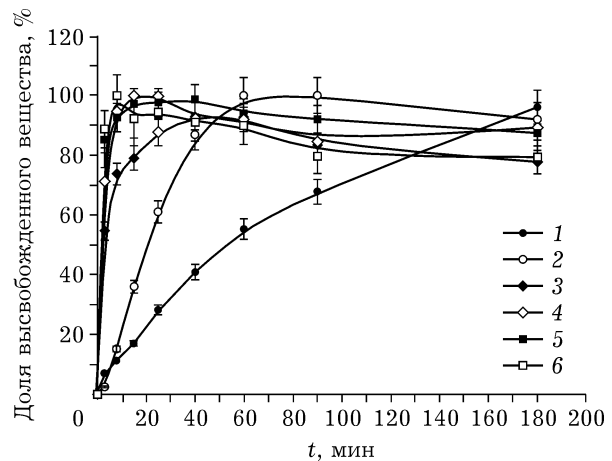


Рис. 4. Кривые растворения: 1 – исходный пироксикам; 2 – физическая смесь МА-пироксикама и МА-высокомолекулярного хитозана; 3, 4 – смесь пироксикама с низкомолекулярным хитозаном, механически активированная в АГО-2 (3), в SPEX 8000 (4); 5, 6 – смесь пироксикама с высокомолекулярным хитозаном, механически активированная в АГО-2 (5) и в SPEX 8000 (6).

механокомпозиата возможен переход в раствор уже готовых, образовавшихся при МА молекулярных комплексов пироксикама с хитозаном.

Скорость растворения в случае НМХ меньше, чем при использовании высокомолекулярного биополимера (см. рис. 4). Однако она значительно превышала скорость растворения исходной субстанции. Можно было ожидать, что высокоэнергонапряженная планетарная мельница АГО-2, характеризующаяся высокой скоростью измельчения и активации твердых веществ [24], будет более эффективной для приготовления композиатов. С другой стороны, условия обработки в мельнице SPEX 8000 способствуют взаимодействию компонентов благодаря их активному перемешиванию и сдвиговым напряжениям, реализуемым на контактах частиц. В результате обе мельницы оказались эффективными для получения композиатов в системе пироксикам – хитозан.

ТАБЛИЦА 1

Растворимость механически активированных смесей пироксикам – хитозан (1 : 3)

Мельница	Концентрация пироксикама в водном растворе, мг/мл	
	Пироксикам – НМХ	Пироксикам – ВМХ
SPEX 8000	0.04 ± 0.01	0.10 ± 0.01
АГО-2	0.06 ± 0.01	0.09 ± 0.01

Данные по растворимости пироксикама (метод 2) в МА-смесьях с низко- и высокомолекулярным хитозаном приведены в табл. 1. Растворимость использованного в работе пироксикама в воде при 37 °С составляет 0.03 мг/мл (рН 7). Видно, что в случае ВМХ растворимость пироксикама увеличивается почти в три раза, в то время как при использовании низкомолекулярного биополимера – менее чем вдвое. По-видимому, это связано со строением и свойствами образующихся комплексов. Так, в [17] установлено, что хитозан с большей молекулярной массой образует в растворе более прочные комплексы по сравнению с низкомолекулярным биополимером.

Кроме того, не исключено, что и механохимически в случае высоко- и низкомолекулярного биополимера могут образовываться комплексы разного строения. Действительно, ИК-спектры механически активированных смесей пироксикама с НМХ и ВМХ (см. рис. 2) различаются в области валентных колебаний N–H, O–H, C–O, а также деформационных колебаний CH_3 (1435 см^{-1}) и OH (1093 см^{-1}). По аналогии со строением комплексов в растворе [17] можно предположить, что молекула пироксикама, образуя комплекс с хитозаном, оказывается инкапсулированной полимером. Ранее в [25] было показано, что МА хитозана с пироксикамом приводит к уменьшению геометрического свободного объема биополимера, что косвенно подтверждает данную гипотезу.

Методом потенциометрического титрования установлено, что содержание пироксикама в механокомпозитах пироксикам – хитозан (1 : 3 по массе) практически не отличается для

ВМХ и НМХ и составляет 245 и 242 мг/г соответственно, а для композита пироксикам – НМХ (1 : 10) – 92 мг/г. Полученные значения соответствуют содержанию пироксикама в исходных смесьях, подвергнутых МА.

Исследование биологической активности всех изученных механокомпозитов пироксикама при пероральном введении в дозе 5 мг/кг (в пересчете на чистый пироксикам) показало выраженную противовоспалительную и анальгетическую активность (табл. 2), что свидетельствует о высокой биодоступности из желудочно-кишечного тракта не только самого пироксикама, но и его механокомпозитов с хитозаном, как ВМХ, так и НМХ.

Механокомпозиты пироксикам – хитозан, уменьшая количество корчей по сравнению с контролем на 57.6–69.1 %, проявили более мощную обезболивающую активность, чем пироксикам (на 47.9 %).

Наиболее сильное анальгетическое действие проявили механокомпозиты пироксикам – НМХ. Так, пироксикам – НМХ (1 : 3), уменьшая количество корчей на 69.1 %, превосходил чистый пироксикам в 1.4 раза. Чуть меньше анальгетическая активность композита пироксикам – НМХ (1 : 10), который снижает число корчей на 65.2 % по сравнению с контролем и превосходит чистый пироксикам в 1.3 раза.

Чистый хитозан, без пироксикама, не проявил противовоспалительной и анальгетической активности. Низкомолекулярный хитозан показал недостоверное ($p > 0.05$) подавление отека после введения флогогена на 22.8 и 10.2 % через 3 и 5 ч соответственно, что не может быть признано достаточным для лечебного действия.

ТАБЛИЦА 2

Противовоспалительная и анальгетическая активность пироксикама, хитозана и механокомпозитов пироксикама с хитозаном

Пироксикам и его механокомпозиты	Противовоспалительная активность, % подавления отека при времени МА, ч		Анальгетическая активность, % уменьшения количества “корчей”
	3	5	
Пироксикам – субстанция	72.8	75.7	47.9
НМХ	22.8*	10.2*	–
Пироксикам – НМХ (1 : 10)	60.0	47.6	65.2
Пироксикам – НМХ (1 : 3)	58.9	50.9	69.1
Пироксикам – ВМХ (1 : 3)	69.8	68.9	57.6

* $p > 0.05$; остальные данные достоверны ($p < 0.05$).

Противовоспалительное действие механокомпозита пироксикам–ВМХ (1 : 3) оказалось сильным и проявилось практически на уровне активности чистого пироксикама: он подавлял экссудацию после индукции воспаления через 3 ч на 69.8 % соответственно. Механокомпози́ты пироксикама с НМХ (1 : 3, 1 : 10) проявили более слабую противовоспалительную активность по сравнению с чистым пироксикамом, но оба тормозили развитие отека не менее чем на половину по сравнению с контролем. Так, пироксикам – НМХ (1 : 10) уменьшал воспалительную реакцию на 60.0 % через 3 ч и на 47.6 % через 5 ч, а пироксикам – НМХ (1 : 3) – на 58.9 и 50.9 % соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные механокомпози́ты пироксикама с НМХ и ВМХ обладают хорошей противовоспалительной активностью и превосходят чистый пироксикам по силе анальгетического действия.

Полученные результаты показали, что для улучшения свойств препарата МА позволяет использовать как НМХ, так и ВМХ. Более того, в отличие от известных данных [19–21], для получения механокомпози́тов пироксикам – хитозан с повышенной скоростью выделения пироксикама в раствор и концентрацией ЛВ в растворе, лучший результат дает использование ВМХ. По-видимому, это обусловлено механокрекингом цепей и снижением молекулярной массы биополимера при механической обработке. С другой стороны, при МА формируются молекулярные комплексы пироксикама с хитозаном за счет образования водородных связей между функциональными группами компонентов. Наибольшей растворимостью обладают смеси активированных по отдельности компонентов, растворение которых сопровождается комплексобразованием в растворе. Однако выделение пироксикама в раствор из МА-смеси происходит с большей скоростью благодаря образованию молекулярных комплексов при МА и более развитой поверхности лекарственного вещества в результате распределения в матрице полимера. Использование НМХ в качестве носителя при-

водит к повышению растворимости пироксикама в меньшей степени, что может быть связано со строением межмолекулярных комплексов пироксикам – хитозан. Изучение фармакологических свойств механокомпози́тов пироксикам – хитозан показало выраженную противовоспалительную и анальгетическую активность, что свидетельствует о высокой биодоступности из желудочно-кишечного тракта не только самого пироксикама, но и его комплексов как с низкомолекулярным, так и высокомолекулярным, хитозаном.

Для сравнения биодоступности разных форм пироксикама целесообразно определение их фармакокинетики. Также интересно сравнение их ульцерогенности в условиях эксперимента на животных, так как именно высокая гастротоксичность ограничивает применение пироксикама в клинике. Для выбора оптимальной формы пироксикама по критерию эффективность/безопасность необходимы дальнейшие исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Wiseman E. H., Chang Y.-H., Lombardino J. G. // *Arzneim. Forsch. Drug Res.* 1976. Vol. 26. P. 1300.
- 2 Scarpignato C. // *Curr. Med. Chem.* 2013. Vol. 20(19). P. 2415.
- 3 Soh J. W., Weinstein I. B. // *Prog. Exp. Tumor Res.* 2003. Vol. 37. P. 261.
- 4 Spugnini E. P., Crispi S., Scarabello A., Caruso G., Citro G., Baldi A. // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2008. Vol. 27(1). P. 6.
- 5 Okada K., Itoi E., Miyakoshi N., Nakajima M., Suzuki T., Nishida J. // *Jpn. J. Cancer Res.* 2002. Vol. 93. P. 216.
- 6 Reddy B. S., Nayini J., Tokumo K., Rigotty J., Zang E., Kelloff G. // *Cancer Res.* 1990. Vol. 50. P. 2562.
- 7 Verdina A., Cardillo I., Nebbioso A., Galati R., Menegozzo S., Altucci L., Sacchi A., Baldi A. // *J. Translational Medicine.* 2008. Vol. 6. P. 27.
- 8 Медведева А. С., Сафронова Л. П., Ганенко Т. В., Сухов Б. Г., Ларина Л. И., Коньшина Т. М., Котегов В. П. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2014. № 9. P. 2136.
- 9 Koh B., Shin S. C., Lee Y. B. // *Arch. Pharm. Res.* 1986. Vol. 9(1). P. 55.
- 10 Fernandez M., Margarit M. V., Rodriguez I. C., Cerezo A. // *Int. J. Pharm.* 1993. Vol. 98(1–3). P. 29.
- 11 Ingkatawornwong S., Kaewnopparat N., Tantishaiyakul V. // *Pharmazie.* 2001. Vol. 56(3). P. 227.
- 12 Barzegar-Jalali M., Maleki N., Garjani A., Khandar A. A., Haji_Hosseainloo M., Jabbari R., Dastmalchi S. // *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2002. Vol. 28, No. 6. P. 681.
- 13 Ivashchenko G. L., Shakhtshneider T. P., Boldyrev V. V., Bazarnova N. G., Medvedeva A. S., Safronova L. P. // *Mendeleev Commun.* 2003. Vol. 13, No. 1. P. 3.
- 14 Karatas A., Yüksel N., Baykara T. // *Farmaco.* 2005. Vol. 60, No. 9. P. 777.

- 15 Yu H., Chun M. K., Choi H. K. // *J. Kor. Pharm. Sci.* 2007. Vol. 37, No. 1. P. 1.
- 16 Valizadeh H., Zakeri-Milani P., Barzegar-Jalali M., Mohammadi G., Danesh-Bahreini M. A., Adibkia K., Nokhodchi A. // *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2007. Vol. 33, No. 1. P. 45.
- 17 Sanyakamdhorn S., Agudelo D., Tajmir-Riahi H. A. // *Biomacromolecules.* 2013. Vol. 14, No. 2. P. 557.
- 18 Bei Y. Y., Chen X. Y., Liu Y., Xu J. Y., Wang W. J., Gu Z. L., Xing K. L., Zhu A. J., Chen W. L., Shi L. S., Wang Q., Zhang X., Zhang Q. // *Int. J. Nanomedicine.* 2012. Vol. 7. P. 1819.
- 19 Jin X., Zhang S., Li S., Liang K., Jia Z. // *Pharmacogn. Mag.* 2016. Vol. 12, No. 45. P. 57.
- 20 Kini A. G., Dixit M., Kulkarni P. K. // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2011. Vol. 3, No. 2. P. 231.
- 21 Qandil A. M., Obaidat A. A., Ali M. A. M., Al-Taani B. M., Tashtoush B. M., Al-jbour N. D., Al-Remawi M. M., Al-Sou'od K. A., Badwan A. A. // *J. Solution Chem.* 2009. Vol. 38. P. 695.
- 22 USSR Inventor's Certificate, 1764296, C07D, 1990.
- 23 Pat. 2109738 RF, C07D, 1993.
- 24 Болдырев В. В., Аввакумов Е. Г., Болдырева Е. В. // *Фундаментальные основы механической активации, механосинтеза и механохимических технологий / под ред. Е. Г. Аввакумова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, Новосибирск, 2009, с. 343.*
- 25 Иващенко Г. Л. Механохимическое модифицирование хитина и хитозана в присутствии пироксикама и монохлорацетата натрия: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Барнаул, 2005.