

EDN: CJTIDE

УДК 54.05:547.99:615.1

Mechanochemical Synthesis of Composites in the Betulin-L-Histidine-Arabinogalactan System and Their Physical and Chemical Properties

Evgenya S. Skurydina^{*a}, Svetlana A. Myz^b,
Svetlana A. Kuznetsova^a and Tatyana P. Shakhtshneider^b

*^aInstitute of Chemistry and Chemical Technology
of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICCT SB RAS)
Krasnoyarsk, Russian Federation*

*^bInstitute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS
Novosibirsk, Russian Federation*

Received 28.08.2023, received in revised form 06.10.2023, accepted 13.10.2023

Abstract. In order to improve bioavailability and expand the range of pharmacological properties of biologically active betulin, mechanocomposites of betulin with natural water-soluble polysaccharide arabinogalactan, with amino acid L-histidine and in the ternary system betulin-L-histidine-arabinogalactan were obtained. The formation of mechanocomposites was confirmed by X-ray phase analysis and IR-spectroscopy. It was found that when dissolving the obtained mechanocomposites in water, a higher concentration of betulin in solution was achieved compared to the solubility of the starting substance.

Keywords: mechanical activation, mechanocomposites, betulin, L-histidine, arabinogalactan.

Acknowledgements. This research was funded by budget projects No. FWES-2021–0017 for the ICCT SB RAS and No. 121032500064–8 for the ISSCM SB RAS. The equipment of the Krasnoyarsk Regional Center for Collective Use of FRC KSC SB RAS was used in this work. The authors are grateful to G.N. Bondarenko for surveying and providing the XRD results.

Citation: Skurydina E. S., Myz S. A., Kuznetsova S. A., Shakhtshneider T.P. Mechanochemical synthesis of composites in the betulin-L-histidine-arabinogalactan system and their physical and chemical properties. J. Sib. Fed. Univ. Chem., 2023, 16(4), 539–551. EDN: CJTIDE



Механохимический синтез композитов в системе бетулин-L-гистидин-арабиногалактан и их физико-химические свойства

Е. С. Скурыдина^а, С. А. Мызь^б,
С. А. Кузнецова^а, Т. П. Шахтшнейдер^б

^аИнститут химии и химической технологии СО РАН
ФИЦ КНЦ СО РАН (ИХХТ СО РАН)
Российская Федерация, Красноярск

^бИнститут химии твердого тела и механохимии СО РАН
Российская Федерация, Новосибирск

Аннотация. С целью улучшения биодоступности и расширения спектра фармакологических свойств биологически активного бетулина получены механокомпозиты бетулина с природным водорастворимым полисахаридом арабиногалактаном, с аминокислотой L-гистидином и в тройной системе бетулин-L-гистидин-арабиногалактан. Образование механокомпозитов подтверждено методами рентгенофазового анализа и ИК-спектроскопии. Установлено, что при растворении полученных механокомпозитов в воде достигается большая концентрация бетулина в растворе по сравнению с растворимостью исходного вещества.

Ключевые слова: механическая активация, механокомпозиты, бетулин, L-гистидин, арабиногалактан.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственных заданий ИХХТ СО РАН (FWES-2021–0017) и ИХТТМ СО РАН (проект 121032500064–8). В работе использовано оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН. Авторы выражают благодарность Бондаренко Г. Н. за съемку и предоставление результатов РФА.

Цитирование: Скурыдина Е. С., Мызь С. А., Кузнецова С. А., Шахтшнейдер Т. П. Механохимический синтез композитов в системе бетулин-L-гистидин-арабиногалактан и их физико-химические свойства. Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2023, 16(4). С. 539–551. EDN: CJTIDE

Бетулин, выделяемый из бересты коры берёзы, является ценным биологически активным веществом, проявляющим широкий спектр фармакологической активности: противовоспалительной, гастро- и гепатопротекторной, антиоксидантной, противоопухолевой [1, 2]. Однако плохая растворимость бетулина в воде [3] ограничивает его использование в медицине и ветеринарии.

В настоящее время для улучшения растворения фармакологически активных веществ, наряду с получением аморфных дисперсий с полимерами, перспективным подходом является получение со-аморфных систем, в которых аморфное состояние гидрофобного лекарственного вещества стабилизируется за счет взаимодействия с низкомолекулярным веществом, называемым «со-формером» [4]. В качестве со-формеров могут выступать аминокислоты, органические кислоты, сахара и др. [5]. Изучение со-аморфных систем с аминокислотами, в том числе

с L-гистидином, показало возможность увеличения скорости растворения плохо растворимых в воде лекарственных веществ при сохранении их физической стабильности [4, 6–8].

L-гистидин, гетероциклическая α -аминокислота, используется при лечении ревматоидных артритов, язв и анемии, повышает секреторную активность желудка и моторику кишечника, улучшает функцию печени, способствует росту и восстановлению тканей, обладает антиоксидантными свойствами [9, 10]. Можно ожидать, что использование L-гистидина в качестве со-формера не только улучшит биодоступность бетулина, но и приведет к новым фармакологически важным свойствам.

Добавление третьего компонента, чаще всего полимера, в бинарную систему улучшает физико-химические свойства биологически активных веществ и вносит значительный вклад в стабильность препаратов в аморфном состоянии, в частности, за счет повышения температуры стеклования [11], приводит к ускоренному растворению биологически активных веществ и образованию пересыщенных растворов на более длительный период благодаря «парашютному» эффекту [4].

Арабиногалактан (АГ) – водорастворимый природный полисахарид, содержание которого в ядровой древесине лиственницы сибирской может достигать 35 %. Он имеет низкую токсичность, обладает иммуномодулирующими и пробиотическими свойствами [12].

На рис. 1 представлены молекулярные структуры бетулина, L-гистидина и АГ. Функциональными группами в бетулине являются первичная и вторичная гидроксильные группы, а также двойная связь в изопропенильной группе у пятичленного кольца. Гидроксильные группы бетулина потенциально могут участвовать в образовании водородных связей с OH-группами арабиногалактана. При получении двойной и тройной систем бетулина с участием L-гистидина в образовании водородных связей могут принимать участие OH- и NH-группы аминокислоты.

Ранее нами были получены бинарные механокомпозиты бетулина и его производных с водорастворимыми полимерами: полиэтиленгликолем и поливинилпирролидоном [3]. Показано

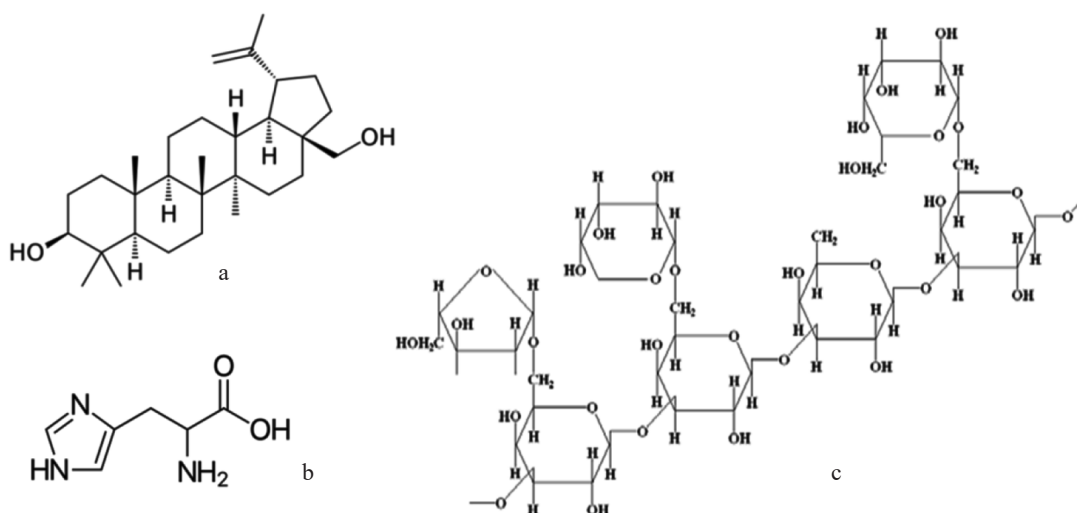


Рис. 1. Молекулярные структуры бетулина (a), L-гистидина (b) и арабиногалактана (c)

Fig. 1. Molecular structures of betulin (a), L-histidine (b) and arabinogalactan (c)

образование молекулярных комплексов диацилов бетулина с АГ при механической активации [13, 14]. Полученные механокомпозиты характеризуются повышенной концентрацией диацилов бетулина при растворении в воде.

Целью данной работы являлось получение и исследование свойств бинарных систем – механокомпозитов бетулина с арабиногалактаном и с L-гистидином и тройной системы – композитов бетулина с L-гистидином и арабиногалактаном.

Экспериментальная часть

Бетулин получали из бересты коры березы (*Betula Pendula* Roth.) по методике, описанной в работе [15]. Согласно данным хромато-масс-спектрометрии содержание бетулина в полученном веществе составляло 97–98 %. АГ выделяли из древесины лиственницы сибирской (*Larix Sibirica*) методом водной экстракции по оригинальной методике, представленной в работе [16]. L-гистидин (Panreac, Испания) и диоксан (ЗАО «Химреактивснаб», ГОСТ 10455–80) использовали без предварительной очистки и сушки.

Для получения механокомпозита бетулин-АГ порошки данных веществ в соотношении 1:9 (масс.) измельчали в планетарной микромельнице Pulverisette 7 premium line в размольных стаканах из диоксида циркония емкостью 80 мл и шаров из ZrO_2 диаметром 10 мм. Число оборотов размольных стаканов – 800 об./мин. Проводили от трех до шести циклов механоактивации по пять минут каждый с перерывами.

Приготовление механокомпозита бетулин-L-гистидин осуществляли путем растирания в яшмовой ступке в течение 5 минут или обработки в планетарной микромельнице Pulverisette 7 premium line смесей порошков в молярных соотношениях бетулин-L-гистидин 1:1 и 1:2. После первого цикла механоактивации в мельнице в систему вносили 0,1 мл диоксана. Затем полученную пасту обрабатывали в мельнице еще в течение 10 или 25 минут.

Получение механоактивированной тройной системы бетулин-L-гистидин-АГ проводили путем обработки в микромельнице Pulverisette 7 premium line смесей порошков с соотношением по массе 3:1:28 и 1,5:1:14, что соответствует молярному соотношению бетулин-L-гистидин 1:1 и 1:2 (мол.), соответственно, и бетулин – АГ 1:9 (масс.). Проводили шесть циклов механоактивации по пять минут каждый. С целью определения влияния последовательности внесения компонентов в смесь при механической обработке, а также добавления растворителя в тройную систему, были исследованы два способа получения механокомпозитов:

Способ 1. Механическую обработку смеси бетулин-L-гистидин проводили в течение 5 минут, затем к этой смеси добавляли диоксан в количестве 0,1 мл. Полученную пасту обрабатывали еще в течение 10 минут. Затем в смесь вносили АГ, и измельчение продолжали еще 15 минут.

Способ 2. Механическую обработку смеси бетулин-АГ проводили в течение 15 минут. Затем к смеси добавляли L-гистидин и обрабатывали еще 15 минут.

Идентификацию кристаллических фаз проводили методом рентгенофазового анализа на дифрактометре ДРОН-3 (НПП «Буревестник», Россия).

ИК-спектры снимали с использованием ИК-Фурье спектрометра IR Tracer-100 (Shimadzu, Япония) в области длин волн 400–4000 cm^{-1} . Образцы для анализа готовили в виде таблеток в матрице KBr (3 мг образца/1000 мг KBr). Обработку спектральной информации проводили в программе OPUS (версия 5.0).

Химический состав бетулина анализировали с помощью газового хроматографа Agilent GC 7890 (капиллярная колонка HP-5MS: 30 м x 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм), соединенного с тройным квадрупольным масс-спектрометром Agilent 7000B (Agilent Technologies, США). В качестве газа-носителя использовался гелий (99,9999 %).

Исследование растворимости механокомпозитов проводили с помощью тестера растворимости Varian705 DS (США) по методике, использованной в работе [17]. Концентрацию бетулина в воде определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на микроколоночном хроматографе Милихром А-02 (Эконова, Россия) с УФ-детектором. Условия хроматографирования: колонка N 2301 2.0×75 мм, сорбент Pronto SIL 120–5С 18 AQ, размер частиц 5.0 мкм, подвижная фаза H₂O(A) –CH₃CN(B), градиентный режим 80–100–100 % В. Объем аликвоты составлял 2 мкл. Скорость потока – 100 мкл/мин, T=35 °С. Полученные вещества определяли на длине волны 200 нм. Хроматограммы обрабатывали с использованием программы Мульти Хром СПЕКТР.

Результаты и обсуждение

Получение механокомпозита бетулин-арабиногалактан

На рентгенограммах механически активированного в мельнице бетулина (рис. 2) наблюдается уширение дифракционных пиков и изменение их интенсивности, что свидетельствует о разупорядочении структуры и частичной аморфизации бетулина. Частичную аморфизацию бетулина ранее наблюдали также при механической обработке бетулина в других мелющих аппаратах [3].

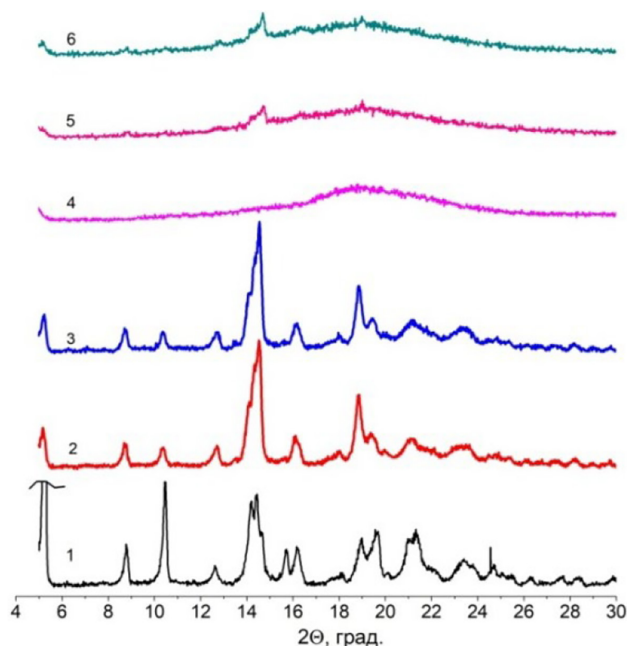


Рис. 2. Дифрактограммы бетулина исходного (1) и механически активированного в мельнице в течение 15 (2) и 30 минут (3); исходного АГ (4) и смесей бетулин-АГ (1:9, масс.), механически активированных в мельнице в течение 15 (5) и 30 минут (6)

Fig. 2. Diffractograms of betulin starting (1) and mechanically activated in the mill for 15 (2) and 30 minutes (3); starting AG (4) and betulin-AG mixtures (1:9, wt.) mechanically activated in the mill for 15 (5) and 30 minutes (6)

Дифрактограммы смесей бетулин – АГ при разной продолжительности механической обработки практически не различаются. Уже через 15 минут обработки интенсивность рефлексов бетулина уменьшается, и большинство рефлексов исчезает, что, по-видимому, связано с встраиванием бетулина в структуру природного полимера.

В ИК-спектре (рис. 3) механически обработанной смеси бетулин-АГ, по сравнению со спектрами физических смесей компонентов, активированных по отдельности, наблюдаются

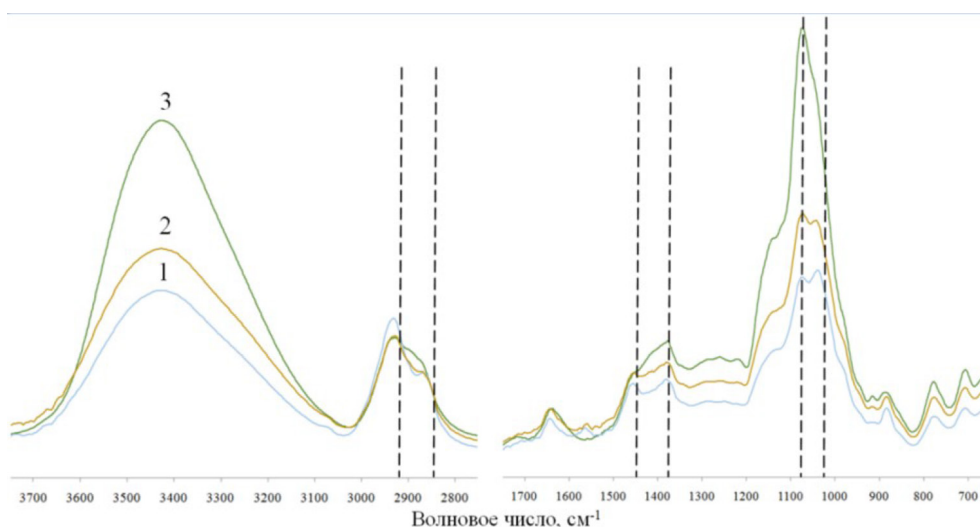


Рис. 3. ИК-спектры смесей бетулин – АГ с массовым соотношением компонентов 1:3 (1) и 1:9 (2), активированных по отдельности, и механически активированной смеси бетулин-АГ в соотношении 1:9 (3)

Fig. 3. IR spectra of mixtures of betulin-arabinogalactan in mass ratio of components 1:3 (1) and 1:9 (2) activated separately, and mechanically activated mixture of betulin-arabinogalactan in ratio 1:9 (3)

изменения полосы $\nu(\text{C-O})$ бетулина в области $1020\text{--}1080\text{ см}^{-1}$, что свидетельствует о взаимодействии бетулина с АГ с образованием водородных связей между ОН-группами бетулина и ОН-группами АГ. Кроме этого, изменяются контуры полос поглощения в области $1380\text{--}1450$ и $2850\text{--}2920\text{ см}^{-1}$, обусловленные колебаниями $\delta(\text{CH}_3)$, $\nu(\text{=C-H})$ и $\nu(\text{C-H})$. Наблюдаемые изменения могут быть связаны с деформацией молекул бетулина при их встраивании в структуру биополимера между его цепей или образованием иных межмолекулярных связей.

Получение механокомпозиата бетулин-L-гистидин

На рис. 4 приведены дифрактограммы исходного L-гистидина и L-гистидина, механически активированного в мельнице Pulverisette 7.

Интенсивность и положение рефлексов чистого L-гистидина в процессе механической обработки изменяется относительно исходного вещества. При этом разницы в интенсивности рефлексов L-гистидина, механоактивированного в течение 15 и 30 минут, практически не наблюдается. Изменения на дифрактограмме механически активированного L-гистидина могут быть связаны с полиморфным переходом при механической обработке или текстурированием измельченного в мельнице вещества. Этот эффект будет изучен в дальнейших исследованиях.

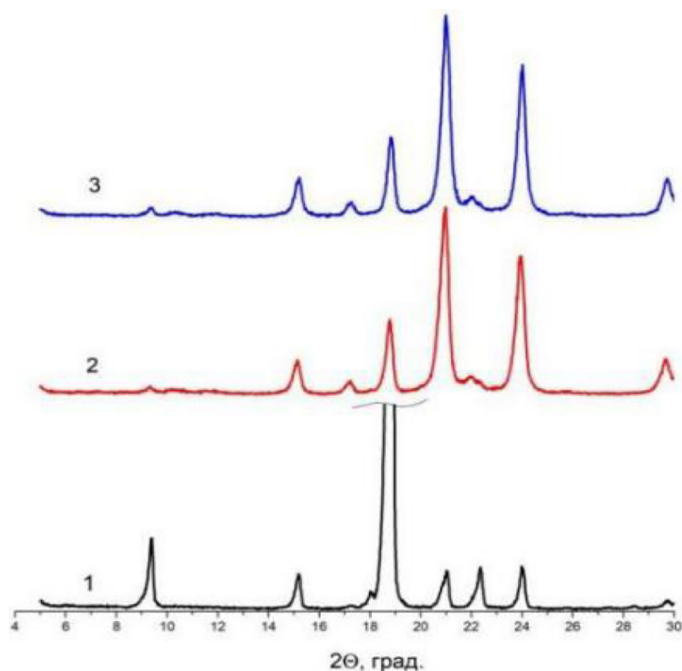


Рис. 4. Дифрактограммы исходного L-гистидина (1) и L-гистидина, механически активированного в мельнице в течение 15 (2) и 30 (3) минут

Fig. 4. Diffractograms of the starting L-histidine (1) and L-histidine mechanically activated in the mill for 15 (2) and 30 (3) minutes

При растирании в ступке смеси бетулин-L-гистидин снижается интенсивность рефлексов обоих компонентов (рис. 5а). Еще больше снижается интенсивность рефлексов после механической активации смеси в мельнице, при этом ряд рефлексов практически исчезает на дифрактограмме. Увеличение продолжительности обработки в мельнице с 15 до 30 минут не дает значимого эффекта. Рентгенодифракционное исследование смесей бетулин-L-гистидин в молярном соотношении 1:2 показало, что с учетом того, что содержание гистидина в последней в 2 раза выше, а интенсивность пиков гистидина при $2\theta = 21$ и $2\theta = 24$ возрастает при механической обработке, наблюдается большее снижение интенсивности рефлексов компонентов на дифрактограммах механически активированных смесей по сравнению со смесью бетулин-L-гистидин 1:1 (мол.). Кроме того, при сравнении результатов механоактивации смеси бетулин-L-гистидин и исходного бетулина видно, что интенсивность рефлексов бетулина, находящегося в смеси с аминокислотой (рис. 5), меньше, чем у исходного механически активированного бетулина (рис. 2), независимо от продолжительности активации. В связи с этим можно предположить, что присутствие L-гистидина делает аморфное состояние бетулина более стабильным по сравнению с механоактивированным исходным бетулином.

На рис. 6 приведены ИК-спектры механически активированных смесей бетулин-L-гистидин с молярным соотношением компонентов 1:1 и 1:2 в сравнении с физическими смесями активированных по отдельности компонентов в этих же соотношениях.

В ИК-спектрах механически активированных смесей бетулина с L-гистидином в области валентных колебаний гидроксильных групп ($3300\text{--}3600\text{ см}^{-1}$) наблюдается размытие мак-

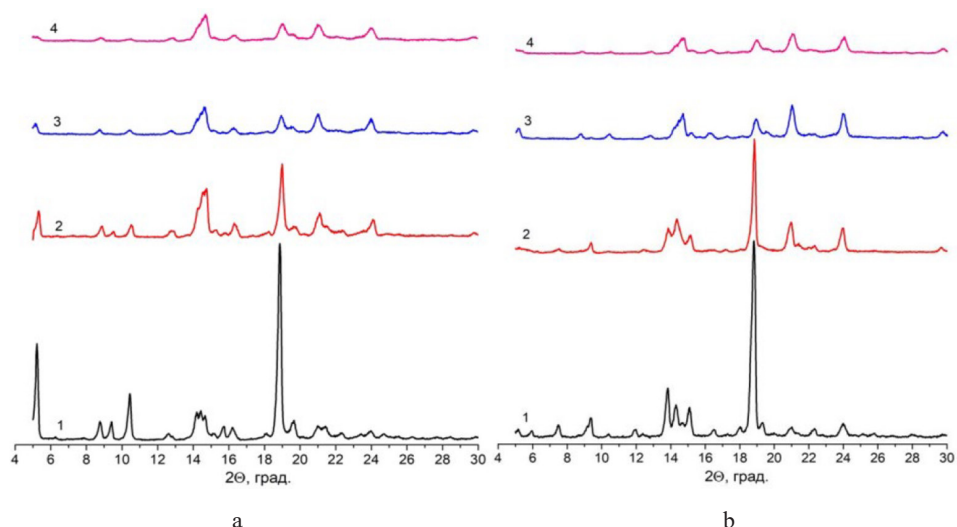


Рис. 5. Дифрактограммы: а) смеси бетулин-L-гистидин (1:1, мол.) исходной (1), после растирания в ступке (2), механически активированной в мельнице в течение 15 (3) и 30 минут (4); б) смеси бетулин-L-гистидин (1:2, мол.) исходной (1), после растирания в ступке (2) и после механической обработки в мельнице в течение 15 (3) и 30 минут (4)

Fig. 5. Diffractograms of: a) betulin-L-histidine (1:1, mol.) mixture starting (1), after grinding in mortar (2), mechanically activated in mill for 15 (3) and 30 minutes (4); b) betulin-L-histidine (1:2, mol.) mixture after grinding in mortar (1) and after mechanical treatment in mill for 15 (2) and 30 minutes (3)

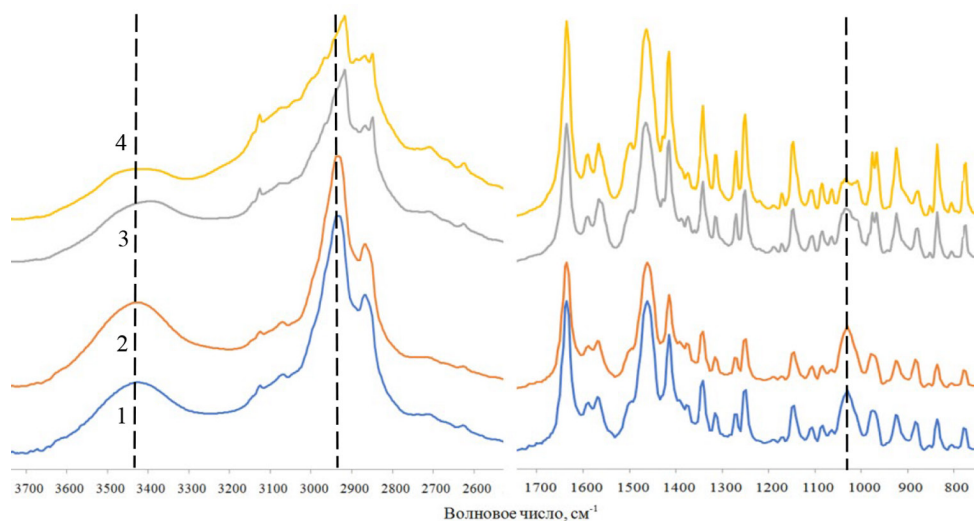


Рис. 6. ИК-спектры смесей бетулин-L-гистидин с мольным соотношением компонентов 1:1 (1, 3) и 1:2 (2, 4), механически активированных по отдельности (1, 2) и вместе (3, 4)

Fig. 6. IR spectra of betulin-L-histidine mixtures with molar ratio of components 1:1 (1, 3) and 1:2 (2, 4) mechanically activated separately (1, 2) and together (3, 4)

симула полосы поглощения по сравнению с соответствующими полосами поглощения физических смесей. Кроме того, в ИК-спектрах механически активированных смесей бетулина с L-гистидином наблюдается изменение контура и сдвиг максимума полосы поглощения в сторону низкочастотной области с 2920 до 2900 см^{-1} в области $\nu(\text{C-H})$ колебаний бетулина;

изменяется контур полосы, относящейся к валентным колебаниям N-H L-гистидина ($2800\text{--}3200\text{ см}^{-1}$), а также полосы поглощения в области 1020 см^{-1} , соответствующей колебанию $\nu(\text{C-O})$ в молекуле бетулина. При этом изменения в случае соотношения бетулин-L-гистидин 1:2 (мол.) более ярко выражены, чем при соотношении 1:1 (мол.). Можно предположить, что при механической активации происходит взаимодействие компонентов с образованием водородных связей между OH-группами бетулина и аминогруппами L-гистидина, и при соотношении бетулин-L-гистидин 1:2 (мол.) количество связанного с L-гистидином бетулина увеличивается.

Получение механокомпозиата бетулин-L-гистидин-арабиногалактан

На рентгеновских дифрактограммах (рис. 7) видно, что механическая активация смеси бетулин-L-гистидин-арабиногалактан приводит к распределению в полимере бетулина и L-гистидина с образованием аморфного композита. При этом последовательность внесения веществ в процессе механоактивации, а также применение небольших количеств диоксана, не приводит к изменению дифракционной картины. Для сравнения на рис. 7 приведены также дифрактограммы смесей L-гистидина с АГ, механически активированных по отдельности и вместе. В случае совместной механической обработки L-гистидин полностью распределяется в полимере с образованием аморфного композита.

Учитывая, что рефлексы на дифрактограммах тройной системы бетулин-L-гистидин- АГ имеют более низкую интенсивность, чем для двойной системы бетулин-АГ (рис. 3), можно предположить, что L-гистидин оказывает дополнительное влияние на аморфизацию бетулина, по-видимому, за счет взаимодействия компонентов, и оба компонента встраиваются в структуру природного полимера.

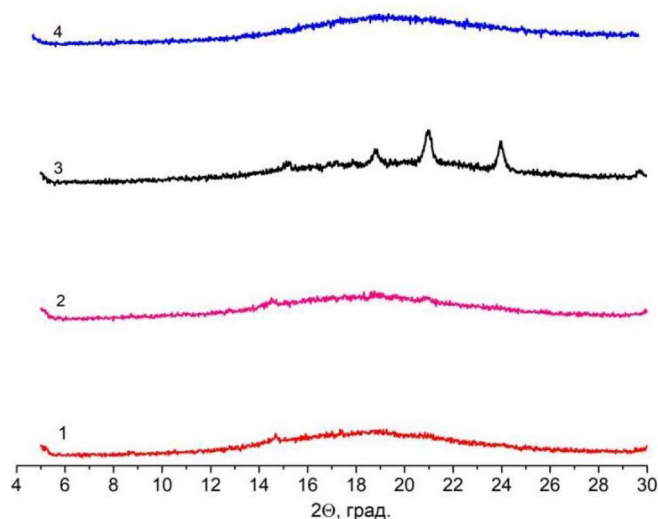


Рис. 7. Дифрактограммы механоактивированных в мельнице смесей бетулин-L-гистидин-АГ (3:1:28, масс.), полученных по способу 1 (1) и 2 (2); смесей L-гистидин-АГ (1:9, масс.), механоактивированных по отдельности (3) и вместе (4)

Fig. 7. Diffractograms of mechanically activated mixtures of betulin-L-histidine-AG (3:1:28, wt.) obtained by method 1 (1) and 2 (2); L-histidine-AG mixtures (1:9, wt.) mechanically activated separately (3) and together (4)

Исследование растворения полученных механокомпозитов

В работе [3] нами была измерена растворимость бетулина в воде, которая составила $1,9 \cdot 10^{-3}$ мг/мл. На рис. 8 представлены профили растворения полученных бинарных (бетулин-АГ и бетулин-Л-гистидин) и тройного (бетулин-Л-гистидин-АГ) механокомпозитов.

При растворении в воде композита бетулина с АГ в начальный момент времени в растворе достигается концентрация бетулина около $5 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (кривая 1). Образование пересыщенного раствора происходит, по-видимому, вследствие высокой скорости выделения бетулина в раствор за счет увеличения площади растворения в результате распределения бетулина в полимере. Затем концентрация бетулина в растворе снижается из-за кристаллизации бетулина из пересыщенного раствора. Таким образом, за счет увеличения скорости растворения происходит увеличение концентрации бетулина в воде в начальный момент времени до 2,6 раз относительно растворимости исходного вещества.

При растворении механокомпозита бетулин-Л-гистидин (кривая 2) получен раствор с концентрацией бетулина около $4 \cdot 10^{-3}$ мг/мл, которая сохранялась в растворе в течение по крайней мере 120 мин. Это может быть обусловлено существованием в растворе ассоциатов молекул бетулина с Л-гистидином, связанных водородными связями. Можно предположить, что бетулин выделяется в раствор в виде молекулярных комплексов с Л-гистидином, образованных при механической активации.

Согласно профилям растворения тройных смесей (кривые 3 и 4), наибольшую концентрацию в растворе проявил композит бетулин-Л-гистидин-АГ (1,5:1:14, масс.), содержащий в своем составе компоненты в следующих соотношениях: бетулин-Л-гистидин 1:2 (мол.), бетулин-АГ 1:9 (масс.). Можно предположить, что повышенная концентрация обусловлена, так же как

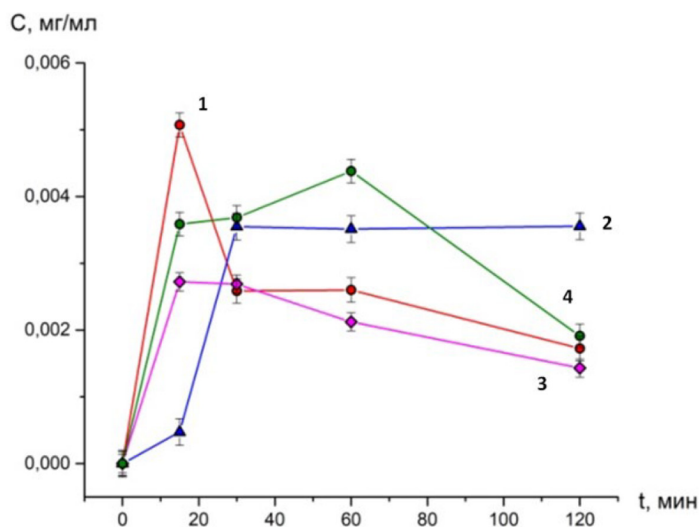


Рис. 8. Профили растворения бетулина из механокомпозитов с арабиногалактаном(1); с Л-гистидином (соотношение компонентов 1:1, мол.) (2), тройных смесей: бетулин-Л-гистидин-АГ (3:1:28, масс.) (3) и бетулин-Л-гистидин-АГ (1,5:1:14, масс.) (4)

Fig. 8. Dissolution profiles of betulin from mechanocomposites with arabinogalactan (1); with L-histidine (component ratio 1:1, mol.) (2); ternary mixtures: betulin-L-histidine-arabinogalactan (3:1:28, wt.) (3) and betulin-L-histidine-arabinogalactan (1.5:1:14, wt.) (4)

и в бинарной системе, присутствием в композите и в растворе ассоциатов бетулин-L-гистидин, и при содержании бетулин-L-гистидин в соотношении 1:2 (мол.) большее количество молекул бетулина связано с L-гистидином, что и дает повышенную растворимость. С другой стороны, концентрация бетулина в растворе падает довольно быстро, что говорит о том, что комплексы в этом случае менее стойкие, чем в двойной системе, так как они, в свою очередь, связаны с АГ в тройной механоактивированной системе.

Заключение

Установлено, что при механической обработке в планетарной микромельнице Pulverisette 7 premium line смеси бетулин: арабиногалактан (1:9, масс.) происходит распределение бетулина в матрице природного полимера с образованием рентгеноаморфного продукта. В результате совместной механической активации смеси возрастает скорость растворения бетулина в воде, за счет чего увеличивается концентрация бетулина в воде в начальный момент времени до 2,6 раз относительно растворимости исходного вещества, что может иметь значение для использования в фармации.

Механическая активация смеси бетулин-L-гистидин приводит к частичной аморфизации веществ и взаимодействию между тритерпеновым спиртом и аминокислотой. Концентрация в воде бетулина, выделяющегося из механокомпозита с L-гистидином, превышает растворимость исходного бетулина, и повышенная концентрация в растворе сохранятся по крайней мере в течение 2 часов.

Показана возможность получения механокомпозитов в тройной системе: бетулин-L-гистидин-арабиногалактан, для которой характерна повышенная концентрация бетулина в водном растворе. Порядок внесения компонентов при механоактивации смеси бетулин-L-гистидин-арабиногалактан, а также добавление небольшого количества растворителя (диоксана), не оказывают влияния на свойства конечного продукта. При механоактивации тройной системы происходит, по-видимому, встраивание молекул бетулина и L-гистидина в структуру биополимера.

Можно ожидать, что благодаря повышенной биодоступности и синергизму действия компонентов, полученные композиты будут проявлять лучшие противовоспалительные свойства, чем компоненты по отдельности, и могут найти применение в качестве средств для лечения гастритов, ревматоидных артритов и других заболеваний.

Список литературы / References

- [1] Demets O.V., Takibayeva A. T., Kassenov R. Z., Aliyeva M. R. Methods of betulin extraction from birch bark. *Molecules* 2022. 27(11), 3621.
- [2] Amiri Sh., Dastghaib S., Ahmadi M., Mehrbod P. et.al. Betulin and its derivatives as novel compounds with different pharmacological effects. *Biotechnology Advances* 2020. 38, 107409.
- [3] Михайленко М.А., Шахтшнейдер Т.П., Дребущак В.А., Кузнецова С.А., Скворцова Г.П., Болдырев В.В. Влияние механической обработки на свойства бетулина, диацетата бетулина и их смеси с водорастворимыми полимерами. *Химия природных соединений* 2011. 2, 211–214. [Mikhailenko M. A., Shakhshneider T. P., Drebushchak V. A., Kuznetsova S. A., Skvortsova G. P., Boldyrev V. V. Effect of mechanical processing on the properties of betulin, betulin

diacetate and their mixture with water-soluble polymers. *Chemistry of Natural Compounds* 2011. 2, 211–214 (In Rus.)]

[4] Aher A.A., Shaikh K. S., Chaudhari P.D. Stability of co-amorphous solid dispersions: Physical and chemical aspects. *Journal of Structural Chemistry* 2023. 64(4), 686–738.

[5] Yarlagadda D.L., Anand V.S.K., Nair A. R., Sree K. N., Dengale S. J., Bhat K. Considerations for the selection of co-formers in the preparation of co-amorphous formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 2021. 602, 120649.

[6] Jangid A.K., Jain P., Medicherla K., Pooja D., Kulhari H. Solid-state properties, solubility, stability and dissolution behavior of co-amorphous solid dispersions of baicalin. *Cryst. Eng. Comm.* 2020. 22(37), 6128–6136.

[7] Liu J., Grohganz H., Löbmann K., Rades T., Hempel N.J. Co-amorphous drug formulations in numbers: Recent advances in co-amorphous drug formulations with focus on co-formability, molar ratio, preparation methods, physical stability, in vitro and in vivo performance, and new formulation strategies. *Pharmaceutics* 2021. 13(3), 389.

[8] Kasten G., Lobmann K., Grohganz H., Rades T. Co-former selection for co-amorphous drug-amino acid formulations. *Int. J. Pharm.* 2019. 557, 366–373.

[9] Wade A.M., Tucker H.N. Antioxidant characteristics of L-histidine. *Journal of Nutritional Biochemistry* 1998. 9(6), 308–315.

[10] Vera-Aviles M., Vantana E., Kardinasari E., Koh N.L., Latunde-Dada G.O. Protective role of histidine supplementation against oxidative stress damage in the management of anemia of chronic kidney disease. *Pharmaceutics* 2018. 11(4), 111.

[11] Pacult J., Rams-Baron M., Chmiel K., Jurkiewicz K., Antosik A., Szafranec J., Kurek M., Jachowicz R., Paluch M. How can we improve the physical stability of co-amorphous system containing flutamide and bicalutamide? The case of ternary amorphous solid dispersions. *Europ. J. Pharm. Sci.* 2019. 136. 104947.

[12] Бабкин В. А. Экстрактивные вещества древесины лиственницы: химический состав, биологическая активность, перспективы практического использования. *Инноватика и экспертиза: научные труды* 2017. 2, 210–224. [Babkin V. A. Extractive substances of larch wood: chemical composition, biological activity, prospects for practical use. *Innovation and expertise: scientific papers* 2017. 2, 210–224 (In Rus.)]

[13] Кузнецова С.А., Шахтшнейдер Т.П., Михайленко М.А., Маляр Ю.Н., Замай А.С., Болдырев В.В. Получение механокомпозигов диацетата бетулина с арабиногалактаном и изучение их противоопухолевых свойств. *Журнал Сибирского федерального университета. Химия* 2013. 6(2), 192–202. [Kuznetsova S.A., Shakhshneider T.P., Mikhailenko M.A., Malyar Yu.N., Zamay A.S., Boldyrev V.V. Preparation of mechanocomposites of betulin diacetate with arabinogalactan and study of their antitumor properties. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry* 2013. 6(2), 192–202 (In Rus.)]

[14] Kuznetsova S.A., Shakhshneider T.P., Mikhailenko M. A., Malyar Yu.N., Kichkailo A. S., Drebuschak V. A., Kuznetsov B.N. Preparation and antitumor activity of betulin dipropionate and its composites. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 2022. 12(5), 6873–6894.

[15] Kuznetsova S.A., Skvortsova G.P., Malyar Yu.N., Skuridina E. S., Veselova O.F. Extraction of betulin from birch bark and study of its physico-chemical and pharmacological properties. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 2014. 40(7), 742–747.

[16] Патент № 2280040 РФ. Кузнецов Б. Н., Кузнецова С. А., Скворцова Г. П. Способ получения арабиногалактана. Оpubл. 20.07.2006. [Patent 2280040 RU. Kuznetsov B. N., Kuznetsova S. A., Skvortsova G. P. Method of obtaining arabinogalactan. Publ. Date 20.07.2006 (In Rus.)]

[17] Михайловская А. В., Мызь С. А., Герасимов К. Б., Кузнецова С. А., Шахтшнейдер Т. П. Синтез смешанных кристаллов бетулина с субериновой кислотой и исследование их свойств. *Химия растительного сырья* 2021. 4. 183–192. [Mikhailovskaya A. V., Myz S. A., Gerasimov K. B., Kuznetsova S. A., Shakhtshneider T. P. Synthesis of mixed crystals of betulin with suberic acid and study of their properties. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja* 2021. 4, 183–192 (In Rus.)]