

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Рік заснування – 1993

ВІСНИК
ФАРМАЦІЇ

NEWS
OF PHARMACY

2024 – № 2 (108)

Харків
НФаУ

Головний редактор

Л. І. Вишневська, д-р фармац. наук, професор

Головний науковий консультант

А. А. Котвіцька, д-р фармац. наук, професор

Заступник головного редактора

К. В. Семченко, д-р фармац. наук, професор

Відповідальний секретар

Є. В. Зуйкіна, д-р філософії, асистент

Редакційна колегія:

Ю. О. Атаман, д-р мед. наук, проф.; Н. Є. Бурда, д-р фармац. наук, проф.;
С. В. Власов, д-р фармац. наук, проф.; І. М. Владимірова, д-р фармац. наук, проф.;
І. І. Заморський, д-р фармац. наук, проф.; І. О. Журавель, д-р хім. наук, проф.;
І. В. Кіреєв, д-р мед. наук, проф.; С. М. Коваленко, д-р хім. наук, проф.;
С. В. Колісник, д-р фармац. наук, проф.; Н. М. Кононенко, д-р мед. наук, проф.;
О. М. Кошовий, д-р фармац. наук, проф.; В. Ю. Кузнецова, д-р фармац. наук, проф.;
О. С. Кухтенко, д-р фармац. наук, проф.; А. С. Немченко, д-р фармац. наук, проф.;
Л. О. Перехода, д-р фармац. наук, проф.; Н. П. Половко, д-р фармац. наук, проф.;
О. А. Рубан, д-р фармац. наук, проф.; О. А. Рухмакова, д-р фармац. наук, проф.;
Р. В. Сагайдак-Нікітюк, д-р фармац. наук, проф.; В. М. Толочко, д-р фармац. наук, проф.;
А. І. Федосов, д-р фармац. наук, проф.; Н. І. Філімонова, д-р мед. наук, проф.;
Н. В. Хохленкова, д-р фармац. наук, проф.; О. С. Шпичак, д-р фармац. наук, проф.;
С. Ю. Штриголь, д-р мед. наук, проф.; В. П. Черних, д-р фармац. наук,
д-р хім. наук, проф., акад. НАН України; Raal Ain, PhD (м. Тарту, Естонія);
Del Bubba Massimo, PhD (м. Флоренція, Італія); Andrzej K. Gzella, д-р фармац.
наук, проф. (м. Познань, Польща)

Журнал внесено до переліку наукових фахових видань України, у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук.

Категорія Б. Галузь науки – фармацевтичні, медичні науки; спеціальності – 222, 226
(наказ МОН України від 15.10.2019 р. № 1301).

Журнал «Вісник фармації» індексується наукометричними базами даних: Chemical Abstracts (CAS), Index Copernicus; внесено до каталогів та пошукових систем: Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access scholarly Resources (ROAD), PKP Index, Ulrich's periodicals, Worldcat, НБУ імені В. І. Вернадського і УРЖ «Джерело».

Рекомендовано вченою радою Національного фармацевтичного університету
(протокол № 9 від 30.10.2024 р.)

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція журналу «Вісник фармації». E-mail: newspharm-journal@nuph.edu.ua, publish@nuph.edu.ua. Сайт журналу: <http://nphj.nuph.edu.ua>

Наказ ректора Національного фармацевтичного університету № 143 від 28.03.2019 р. «Про створення наукового електронного видання»

Підписано до друку 01.11.2024 р. Формат 60x84 1/8.

Редактори О. Ю. Гурко, Л. І. Дубовик; комп'ютерне верстання О. М. Білинської.

ISSN 2415-8844 (Online)

© Національний фармацевтичний університет, 2024

УДК 614.25:615.15]:316.77]] (477)

<https://doi.org/10.24959/nphj.24.152>

Л. О. Гала, К. Л. Косяченко, Ж. М. Полова, Л. В. Коношевич

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Україна

Зростання ролі фармацевта в суспільстві та перспективи його професійної діяльності

Мета роботи – проаналізувати зміни в професійних функціях фармацевтів унаслідок зростання соціального навантаження на аптечні заклади, а також перспективи цієї професії.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження стали нормативно-правові акти з питань регулювання фармацевтичної діяльності; сучасні підходи до організації надання фармацевтичної допомоги й послуг населенню в Україні. Для досягнення визначеної мети використано методи: бібліографічний, історичний, контент-аналіз, аналітико-порівняльний, систематизації та узагальнення.

Результати та їх обговорення. Проаналізовано нормативно-правові акти часів незалежності України, спрямовані на формування пацієнт-орієнтованої моделі функціонування аптечних закладів, зокрема на впровадження міжнародних стандартів якості, активізацію державної політики задля забезпечення доступності лікарських засобів для населення, опрацювання вимог належної аптечної практики на сучасному етапі. Запропоновано класичні функції аптечних закладів (торговельна, виробнича, інформаційна й соціальна) через зростання змістового наповнення професійних ролей фармацевтичних працівників саме соціальною складовою їхньої діяльності окреслювати такими складними понятійними категоріями, що формуються з двох першооснов діяльності: соціально-економічна, торговельно-виробнича, інформаційно-комунікативна, суспільно-гуманітарна. Розглянуто перспективи для фармацевта, який на рівні вторинної спеціалізації може набути нових компетентностей відповідно до професійного стандарту та надалі претендувати на посаду професіонала в галузі охорони здоров'я. Як приклад схарактеризовано участь фармацевта в системі фармаконагляду – повідомлення пацієнта про можливість появи побічних реакцій та алгоритм дій у такій ситуації, збір інформації про побічні реакції лікарських засобів та ризики щодо здоров'я громадян, заповнення карти-повідомлення про побічну реакцію та/або відсутність ефективності терапії.

Висновки. Розширення змістового наповнення професійних функцій фармацевтичних працівників і зростання їхньої ролі в суспільстві через збільшення соціального навантаження сприяють формуванню пацієнт-орієнтованої моделі функціонування аптечних закладів, проте потребують впровадження вимог належної аптечної практики та перегляду пов'язаних із цим нормативно-правових актів для забезпечення умов для якісного надання фармацевтичної допомоги та послуг.

Ключові слова: аптека; фармацевт; функції; лікарські засоби; компетентності; професійний стандарт; фармаконагляд; соціальна відповідальність

L. O. Hala, K. L. Kosyachenko, Zh. M. Polova, L. V. Konoshevykh
Bogomolets National Medical University, Ukraine

The growing role of pharmacists in society and prospects for their professional activities

Aim. To analyze the changes in the professional functions of pharmacists due to the growing social burden on pharmacies, as well as the prospects for this profession.

Materials and methods. The study objects were regulatory legal acts on the regulation of pharmaceutical activities; modern approaches to the organization of pharmaceutical care and services to the population in Ukraine. To achieve this goal, the following methods were used: bibliographic, historical, content analysis, analytical and comparative, systematization and generalization.

Results and discussion. The article analyzes the legal acts of the independence period of Ukraine aimed at forming a patient-oriented model of pharmacy functioning, in particular, the introduction of international quality standards, intensification of the state policy to ensure the availability of medicines for the population, and elaboration of Good Pharmacy Practice requirements at the present stage. It has been proposed that the classical functions of pharmacy institutions (trade, production, information and social) due to the increasing content of the professional roles of pharmacists with the social component of their activities, should be outlined by complex conceptual categories formed from two fundamental activities – socio-economic, trade and production, information and communication, and social and humanitarian. The prospects for a pharmacist who at the level of the secondary specialization can acquire new competencies in accordance with the professional standard and further apply for the position of a healthcare professional have been considered. As an example, the authors describe the participation of a pharmacist in the pharmacovigilance system – notifying the patient about the possibility of adverse reactions and the algorithm of actions in such a situation, collecting information about adverse drug reactions and health risks, filling out a card-notification of an adverse reaction and/or lack of the effectiveness of therapy.

Conclusions. The expansion of the content of professional functions of pharmacists and the growth of their role in society due to the increase in social burden contributes to the formation of a patient-oriented model of pharmacy functioning, but requires the introduction of requirements of Good Pharmacy Practice and the revision of related regulations to ensure conditions for high-quality provision of pharmaceutical care and services.

Keywords: pharmacy; pharmacist; functions; medicines; competencies; professional standard; pharmacovigilance; social responsibility

Вступ. На сьогодні рівень соціально-економічного розвитку будь-якої країни визначають через призму оцінки можливостей забезпечення ресурсами задекларованих у державі соціальних гарантій щодо здоров'я та добробуту населення. У зв'язку з посиленням соціального навантаження на заклади охорони здоров'я, зокрема й аптечні, та зміною пріоритетів розвитку суспільства доцільним постає аналіз професійних ролей фармацевтів аптек в умовах розширення спектра їхньої діяльності та вимог до компетенції. Недооцінка значущості фармацевтів у системі охорони здоров'я України та вплив чинників зовнішнього середовища (залежність працівників від розміру середнього чека, обсягів реалізації певних лікарських засобів (ЛЗ) і супутніх товарів, відсутність мінімальної відстані між аптеками, монополізація роздрібного фармацевтичного ринку) призвела до негативної тенденції розглядати фахівця аптеки лише як продавця ліків, що потребує реформування правових основ для окреслення в нашій державі вимог до належної фармацевтичної діяльності, зокрема з питань роздрібної реалізації ЛЗ населенню, які відповідають кращим світовим практикам. Проте, незважаючи на обставини, суспільство покладає на фармацевтів все нові функції (реалізація урядової програми «Доступні ліки», забезпечення фармаконагляду, функціонування аптечного закладу під час пандемії COVID-19, в умовах воєнного стану тощо).

У наукових працях за напрямом роботи автори досліджували зміни в переліку сучасних професійних обов'язків фармацевтичних працівників та набуття ними навичок (soft і hard skills) для різних посад (М. В. Зарічкова, І. Ю. Мішина, 2023) [1]; стан активності фармацевтів аптечних закладів у виявленні та запобіганні побічних реакцій ЛЗ (О. Я. Міщенко та ін., 2019) [2]; підходи до реалізації професійної ролі фармацевтичного працівника через концепцію «фармацевт десяти зірок» (Ю. Кремень та ін., 2023) [3].

Мета роботи – проаналізувати зміни в професійних функціях фармацевтів унаслідок зростання соціального навантаження на аптечні заклади, а також перспективи цієї професії.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження стали нормативно-правові акти з питань регулювання фармацевтичної діяльності; сучасні підходи до організації надання фармацевтичної допомоги й послуг населенню в Україні; наукова література за тематикою дослідження. Для досягнення визначеної мети використано методи: бібліографічний, історичний, контент-аналізу, аналітико-порівняльний, систематизації та узагальнення.

Результати та їх обговорення. За роки незалежності України система фармацевтичного забезпечення населення (СФЗН) пройшла складний шлях змін від радянської спадщини організації роботи аптечних закладів до соціально спрямованих змін у фармацевтичному секторі та в системі охорони здоров'я, що сприяють поступовому формуванню пацієнт-орієнтованої моделі їх функціонування.

Основи законодавства України про охорону здоров'я (Закон України від 19.11.1992 р. № 2801-ХІІ) окреслили для фармацевтичних працівників низку професійних обов'язків, що мали декларативний характер та віддзеркалювали переважно їхню соціальну роль у суспільстві, а саме: сприяти зміцненню здоров'я людей, надавати невідкладну медичну допомогу, дотримуватися вимог професійної етики й деонтології, надавати консультативну допомогу колегам, підвищувати рівень професійних знань та цифрової компетентності [4].

2010 року Концепцією розвитку фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я України на 2011–2020 рр. передбачено впровадження міжнародних стандартів системи забезпечення якості продукції та послуг, серед яких належна аптечна практика (GPP) та належна практика з фармаконагляду. Як інформаційне підґрунтя розробки стандартів GPP для подальшого їх упровадження в практичну діяльність аптечних закладів пропонувано Настанови з належної аптечної практики (1999 р.), розроблені Міжнародною фармацевтичною федерацією (МФФ) за підтримки Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ). Водночас удосконалення функціонування системи фармаконагляду потребувало залучення і спеціалістів аптечних закладів до своєчасного інформування уповноваженої установи про виникнення побічних реакцій або відсутність ефективності ЛЗ, що знайшло відображення в наказі Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України «Про затвердження Порядку здійснення фармаконагляду» від 27.12.2006 № 898 [5–7].

2019 року Комітет Верховної Ради України з питань здоров'я нації, медичної допомоги та медичного страхування переглянув вищезазначену Концепцію розвитку фармацевтичного сектора та запропонував проєкт нової Концепції на 2020–2025 роки. Серед ключових цілей – упровадження GPP, забезпечення фізичної та економічної доступності ЛЗ для населення. Було наголошено, що основним бенефіціаром функціонування фармацевтичного сектора має стати саме пацієнт, якого належить забезпечувати безпечними, якісними й доступними ЛЗ [8].

Настанови з належної аптечної практики (1999 р.) охоплювали вимоги до чотирьох основних аспектів фармацевтичної діяльності, а саме: до профілактики захворювань, раціонального використання ЛЗ і медичних виробів, надання рекомендацій у разі самолікування, впливу на призначення і застосування ліків [6]. Згодом МФФ, враховуючи зміни в регулюванні фармацевтичного забезпечення, аптечній діяльності та прикладній науці, ініціювала процес оновлення Настанов з GPP, що завершився оприлюдненням Спільної настанови МФФ/ВООЗ з GPP (2011 р.) – новітніх підходів до забезпечення якості аптечних послуг, бо GPP було задекларовано як аптечну практику, спрямовану на задоволення потреб людей. Оновлена версія GPP (2011 р.) передбачає такі чотири професійні ролі фармацевтів: 1) виготовлення, отримання, зберігання, безпека, реалізація та утилізація ЛЗ і медичних виробів; 2) забезпечення ефективності

фармакотерапії; 3) підтримка стратегії безперервного професійного розвитку; 4) сприяння поліпшенню ефективності охорони здоров'я громадян [9]. Без сумніву, оновлений варіант настанови МФФ/ВООЗ з GPP посилив вимоги до складових GPP, якщо порівнювати з попередньою версією, шляхом виділення в кожній ролі фармацевта низки відповідних функцій, що потребують певних компетентностей у процесі професійної діяльності. Для забезпечення фармацевтами всіх функцій GPP передбачено розробку й упровадження в практику відповідних національних стандартів. У наказі МОЗ України від 30.05.2013 р. № 455 «Про настанову ВООЗ та МФФ «Належна аптечна практика: Стандарти якості аптечних послуг» було запропоновано для розробки цих стандартів брати за інформаційну основу вищезазначену настанову ММФ/ВООЗ з GPP (2011 р.). На жаль, забезпечення методологічного супроводу створення національних стандартів GPP та їх упровадження в практику вітчизняної СФЗН на той час так і не було реалізовано [10].

Діяльність фармацевта в Україні належить до регульованих професій і передбачає відповідно до вимог стандарту вищої освіти зі спеціальності 226 Фармація, промислова фармація (2022 р.) опанування низки обов'язкових компетентностей та набуття програмних результатів навчання. У підсумку, випускники спеціалізації 226.01 Фармація отримують професійну кваліфікацію фармацевт і вже після закінчення інтернатури (у разі необхідності спеціалізації) обіймають посади, що відповідають професіям керівників та професіоналів у сфері фармації.

З ухвалою нового Закону України «Про лікарські засоби» №2469-IX від 28.07.2022 р. та після набуття чинності його положень суттєво розшириться і оновиться, проти редакції 1996 р., перелік термінів, що окреслюють практичну діяльність фармацевта, а саме: аптека, зловживання ЛЗ, належна аптечна практика, небажана реакція, система фармаконагляду, фармацевтична допомога, фармацевтична послуга тощо [11]. У серпні 2024 р. створена наказом Держлікслужби від 19.08.2024 р. № 1268 робоча група розпочала розробку та перегляд нормативно-правових актів, спрямованих на реалізацію вищезазначеного Закону. Одним із таких документів, що нині опрацьовують на підставі Спільної настанови МФФ/ВООЗ з GPP (2011 р.) з урахуванням українських реалій фармацевтичного сектора, є належна аптечна практика, для запровадження вимог якої в діяльність аптечних закладів визначено п'ятирічний термін [12].

Численні публікації вітчизняних науковців підтверджують посилення соціальної відповідальності аптечних закладів і фармацевтів у сучасних умовах. Серед основних напрямів в Україні можна зазначити такі: забезпечення належної фармацевтичної опіки під час відпуску безрецептурних і рецептурних ЛЗ; поступове законодавче врегулювання норм рецептурного відпуску шляхом упровадження електронних рецептів задля запобігання безконтрольному використанню ліків споживачами; розширення напрямів

і асортименту ЛЗ в урядовій програмі «Доступні ліки»; формування та реалізація соціальної відповідальності бізнесу під впливом факторів зовнішнього середовища; надання додаткових послуг в аптеках (вимірювання артеріального тиску, маси тіла, рівня цукру в крові, відпуск інтернет-замовлень); проведення профілактичних щеплень в аптеках; запровадження діяльності аптечних мобільних пунктів; участь фармацевтів у профілактичних заходах з питань збереження здоров'я; покращення рівня медичної та фармацевтичної грамотності населення з питань профілактики захворювань, зміцнення здоров'я, збереження навколишнього природного середовища [13, 14].

Розширення соціальної спрямованості діяльності аптечних закладів у світі детально висвітлено в численних звітах МФФ, наприклад, щодо ключової ролі фармацевта у відмові від тютюнопаління (2024 р.), забезпеченні вакцинації населення в аптеках (2024 р.), наданні послуг з експрес-тестування (2024 р.), управлінні скелетно-м'язовим болем в аптеках (2024 р.) [15-18].

Сучасний фармацевтичний ринок характеризується широким асортиментом ЛЗ та супутніх товарів, від якості, ефективності й доступності яких значною мірою залежить здоров'я, а інколи й життя громадян. В умовах посилення тенденцій до комерціалізації діяльності аптек та водночас упровадження на державному рівні програм, спрямованих на підвищення фізичної та економічної доступності ЛЗ для всіх верств населення, на аптечні заклади покладено відповідальність за забезпечення соціальних гарантій із надання пацієнтам амбулаторної фармацевтичної допомоги за повну вартість, а певним групам населення і хворим – безоплатно чи на пільгових умовах. Отже, аптека має одночасно реалізовувати комплекс заходів, що забезпечують виконання закладом як медико-соціального, так і фінансово-економічного навантаження в системі охорони здоров'я. Дуалізм діяльності аптечних закладів, розширення наповненості професійних ролей фармацевтичних працівників потребують нового осмислення функцій аптек в умовах формування в суспільстві пацієнт-орієнтованої моделі функціонування охорони здоров'я та СФЗН зокрема.

У табл. наведено результат переосмислення функцій аптечних закладів в умовах змін на фармацевтичному ринку під впливом факторів зовнішнього середовища. Так, у класичній моделі діяльності аптек пріоритетним поняттям є фармацевтична допомога, яка підлягає монетизації, а послуга передбачає інформативно-консультативне навантаження на фармацевтів. Пацієнт-орієнтована модель потребує додаткового категорійного поняття «фармацевтична послуга», що в перспективі також має монетизуватися [19, 20]. Адже аптечні заклади є не лише закладами охорони здоров'я, а й суб'єктами господарської діяльності, серед напрямів роботи яких – отримання прибутку, поширення спектра фармацевтичних послуг та досягнення конкурентоспроможності на ринку.

Порівняльний аналіз функцій аптеки в класичній моделі її функціонування
та в пацієнт-орієнтованій, що нині формується

Класична модель	Пацієнт-орієнтована модель
торгівельна – реалізація ЛЗ та супутніх товарів за рецептами та без рецептів (за затвердженням переліком) населенню, закладам охорони здоров'я та іншим організаціям	соціально-економічна – організація ефективного надання населенню фармацевтичної допомоги й послуг на пільгових або безоплатних умовах за рахунок державних фондів
виробнича – виготовлення ліків за індивідуальними рецептами і вимогами закладів охорони здоров'я, контроль їхньої якості	торгівельно-виробнича – реалізація ЛЗ (за потреби їх виробництво в умовах аптеки) та супутніх товарів за рецептами й без них (за затвердженням переліком)
інформаційна – організація санітарно-просвітницької діяльності серед населення, забезпечення фармацевтичної опіки й надання інформації про ЛЗ закладам охорони здоров'я	інформаційно-комунікативна – організація санітарно-просвітницької діяльності серед населення, забезпечення фармацевтичної опіки й надання інформації про ЛЗ та з інших питань фармації суб'єктам СФЗН (заклади охорони здоров'я, страхові компанії, громадські організації, державні інституції тощо)
соціальна – надання першої медичної допомоги, забезпечення пільгового й безоплатного відпуску ЛЗ	суспільно-гуманітарна – участь у реалізації проєктів і заходів, спрямованих на підтримку й збереження здоров'я суспільства та окремих його індивідумів, надання першої медичної допомоги

У класичному визначенні аптеці притаманні чотири ключові функції (торгівельна, виробнича, інформаційна й соціальна), які в пацієнт-орієнтованій моделі функціонування доцільно окреслити складними понятійними категоріями, що формуються з двох першооснов діяльності: соціально-економічна, торговельно-виробнича, інформаційно-комунікативна, суспільно-гуманітарна (табл.) [13, 19, 20].

З огляду на сучасні зміни вітчизняного законодавства з питань фармації, розширення змістового наповнення професійних ролей фармацевтичних працівників, а отже, й оновлення обов'язків, умінь і кваліфікаційних вимог для різних посад фармацевтів, наведених у Довіднику кваліфікаційних характеристик (випуск 78 «Охорона здоров'я»), варто звернути увагу на Професійні стандарти за різними професіями (фармацевтів), які спонукають фармацевтичних працівників підвищувати професійну кваліфікацію та адаптуватися до викликів сьогодення. Безперервний професійний розвиток сприяє набуттю нових компетентностей, потрібних для успішної практичної діяльності, зокрема, фармацевт на післядипломному рівні за наявності відповідної спеціалізації та підтвердження професійної кваліфікації, згідно з постановою КМ України «Про затвердження Порядку присвоєння та підтвердження професійних кваліфікацій кваліфікаційними центрами» від 15 вересня 2021 р. № 956, може претендувати на посаду професіонала в галузі охорони здоров'я, наприклад, експерта з оцінки медичних технологій (спеціалізація «Оцінка медичних технологій»), професіонала з клінічних досліджень (спеціалізація «Клінічні дослідження»), професіонала з фармаконагляду (спеціалізація «Фармаконагляд»), кваліфікаційні вимоги до яких також визначено вищезгаданим Довідником кваліфікаційних характеристик [21, 22]. Здобуття даних кваліфікацій є перспективним напрямом

практичної реалізації фармацевтів у системі охорони здоров'я.

У своїй повсякденній діяльності фармацевт бере безпосередню участь у фармаконагляді – процесі, що спрямований на виявлення, оцінювання та запобігання виникненню небажаних реакцій або інших проблем, пов'язаних з безпекою та ефективністю застосування ЛЗ. Відповідно до Порядку здійснення фармаконагляду (наказ МОЗ України від 27.12.2006 р. № 898) фармацевтів залучають до функціонування системи фармаконагляду, зокрема до збору інформації про побічні реакції ЛЗ та ризики щодо здоров'я громадян, будь-які інші питання, пов'язані з безпекою та ефективністю ЛЗ, інформуванням пацієнтів щодо можливих небажаних реакцій та алгоритму дій у разі їх виникнення, а також до заповнення за потреби карти-повідомлення про побічну реакцію ЛЗ, вакцини, туберкульозу, та/або відсутність ефективності ЛЗ, та/або несприятливу подію після імунізації/туберкульодіагностики, що її надають до ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [7]. Відповідно до наказу МОЗ України від 05.01.2022 р. № 7 «Про затвердження протоколів фармацевта» фармацевт у разі надання інформації про ЛЗ для відповідального самолікування, окрім рекомендацій та застережень, має повідомити пацієнта про можливість появи побічних реакцій, як передбачених, так і непередбачених, та необхідні дії в такій ситуації. Спільна настанова МФФ/ВООЗ з GPP (2011 р.) одним із шести компонентів місії фармацевтичної практики зазначає запобігання шкоді від ліків, зокрема шляхом моніторингу процесу лікування для перевірки його результативності й наявності побічних реакцій [9, 23]. Варто зауважити, що й у Довіднику кваліфікаційних характеристик (випуск 78 «Охорона здоров'я») для різних посад фармацевтів серед завдань і обов'язків зазначено здійснення діагностики та

нагляду за побічними реакціями ЛЗ, зокрема медичних імунобіологічних препаратів, у разі проведення профілактичних щеплень [21].

Фармацевтичний ринок потребує професіоналів з фармаконагляду, мета професійної діяльності яких полягає в здійсненні фармаконагляду задля безпечного застосування ЛЗ та покращення лікування пацієнтів. Професійний стандарт за професією «Професіонал з фармаконагляду» (наказ ГО «Об'єднання організацій роботодавців медичної та мікробіологічної промисловості України» від 23.03.2023 р. № 04-23) визначає місцем роботи для такого професіонала заклади охорони здоров'я, регуляторні/уповноважені органи щодо здійснення фармаконагляду (заявника ЛЗ або його представника). Серед трудових функцій, які формує низка професійних компетентностей, такі: керуватися нормами чинного законодавства та міжнародними стандартами; організовувати й забезпечувати функціонування системи фармаконагляду, оцінювати ефективність їхньої діяльності; здійснювати критичні процеси фармаконагляду [22].

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Проаналізовано важливі кроки в нормативно-правовому регулюванні в напрямі формування пацієнт-орієнтованих підходів у діяльності аптечних закладів, а саме: впровадження міжнародних стандартів системи якості, розроблення стандартів аптечних

послуг в Україні, активізація державної політики щодо забезпечення доступності ЛЗ для населення, адаптація українського законодавства до європейського, опрацювання вимог GPP на сучасному етапі функціонування фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я.

2. Поступове зростання змістового наповнення професійних ролей фармацевтичних працівників у напрямі розширення соціальної складової їхньої діяльності призводить до необхідності уточнити класичні функції аптечних закладів та означити їх складними понятійними категоріями (соціально-економічна, торговельно-виробнича, інформаційно-комунікативна, суспільно-гуманітарна), що пов'язане з формуванням пацієнт-орієнтованого підходу в системі охорони здоров'я та фармацевтичного забезпечення населення.

3. На сьогодні на рівні вторинної спеціалізації фармацевт може набути нових компетентностей і відповідно до професійного стандарту, наприклад, за професією «Професіонал з фармаконагляду», отримавши сертифікат про присвоєння/підтвердження професійної кваліфікації, безпосередньо здійснювати фармаконагляд у системі охорони здоров'я.

4. Перспективним вважаємо дослідження відображення у вітчизняних стандартах GPP у межах професійних ролей нових функцій фармацевтів та їх реалізації на практиці.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Зарічкова М. В., Мішина І. М. Дослідження сучасних функціональних обов'язків фармацевтичних працівників та набуття ними навичок, адаптованих до умов сьогодення. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2023. Т. 9, № 4. С. 39-54. DOI: 10.24959/sphhcj.23.308.
2. Міщенко О. Я., Осташко В. Ф., Коваленко Є. М., Грешко Ю. І. Оцінка професійної активності фармацевтів аптечних закладів щодо їх обов'язків у забезпеченні безпечного застосування ліків. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 2. С. 36-42. DOI: 10.24959/sphhcj.19.150.
3. Kremin Y., Lesyk L., Lesyk R., Levytska O., Hromovik B. Detailing the Ten Main Professional Roles of a Pharmacist to Provide the Scope of Professional Functions. *Scientia Pharmaceutica*. 2023. Vol. 91, № 1. DOI: 10.3390/scipharm91010005.
4. Основи законодавства України про охорону здоров'я : Закон України від 19.11.1992 № 2801-XII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2801-12#Text>.
5. Про затвердження Концепції розвитку фармацевтичного сектора галузі охорони здоров'я України на 2011-2020 роки : Наказ МОЗ України від 13.09.2010 № 769. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0769282-10#Text>.
6. WHO Technical Report Series, № 885, 1999. Good pharmacy practice in community and hospital pharmacy setting. P. 93-101. URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42145/WHO_TRS_885.pdf?sequence=1.
7. Про затвердження Порядку здійснення фармаконагляду : наказ МОЗ України від 27.12.2006 № 898. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0073-07#Text>.
8. Лисенко Л. Профільний парламентський комітет представив нову Концепцію розвитку фармацевтичного сектора. *Щотижневик АПТЕКА*. 2019. № 40 (1211). URL: <https://www.apteka.ua/article/518598>.
9. WHO Technical Report Series, № 961, 2011. Good pharmacy practice: standards for quality of pharmacy services (joint FIP/WHO). P. 310-323. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44079/WHO_TRS_961_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
10. Про настанову ВООЗ та МФФ «Належна аптечна практика: Стандарти якості аптечних послуг» : наказ МОЗ України від 30.05.2013 № 455. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0455282-13#Text>.
11. Про лікарські засоби : Закон України від 28.07.2022 №2469-IX. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2469-20#Text>.
12. Пішохідна доступність між аптеками, вдосконалення кваліфікаційних вимог до фармацевтичних працівників. Результати засідання робочої групи при Держліксслужбі. *Щотижневик АПТЕКА*. 2024. № 36 (1457). URL: <https://www.apteka.ua/article/702308>.
13. Гала Л. О. Аналіз ефективності виконання аптекою основних функцій за умов упровадження Належної аптечної практики в Україні. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019. Т. 5, № 3. С. 48-56. DOI: 10.24959/sphhcj.19.162.
14. Кривов'яз О. В., Коваль В. М. Порівняльна характеристика функціонування аптечних закладів в Україні та країнах Європейського економічного простору. *Фармацевтичний журнал*. 2023. Т. 78, № 6. С. 30-45. DOI: 10.32352/0367-3057.6.23.03.
15. Pharmacist-led tobacco cessation services: Global intelligence report, 2024. FIP, 2024. URL: <https://www.fip.org/file/5873>.

16. Leveraging pharmacy to deliver life-course vaccination: An FIP global intelligence report, 2024. FIP, 2024. Available at: <https://www.fip.org/file/5848>
17. Managing musculoskeletal pain in the community pharmacy: Report from an international insight board, 2024. FIP, 2024. URL: <https://www.fip.org/file/5758>.
18. Pharmacy-based point-of-care testing: A global intelligence report, 2024. FIP, 2024. URL: <https://www.fip.org/file/5911>.
19. Організація та економіка фармації. Ч. 1. Організація фармацевтичного забезпечення населення : нац. підруч. / А. С. Немченко та ін.; за ред. А. С. Немченко. Харків, 2015. 360 с.
20. Панфілова Г. Л., Немченко А. С., Гала Л. О. Концептуальні засади функціонування аптечних закладів у пацієнтоорієнтованій моделі розвитку вітчизняної системи фармацевтичного забезпечення населення за умов медичного страхування : метод. рек. Київ, 2019. 32 с.
21. Довідник кваліфікаційних характеристик професій працівників (випуск 78 «Охорона здоров'я») : Наказ МОЗ України від 29.03.2002 № 117. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/va117282-02#Text>.
22. НАК оприлюднило професійні стандарти професіоналів та фахівців у сфері фармації. 05.04.2023. URL: <https://moz.gov.ua/uk/nak-zatverdilo-profesijni-standarti-profesionaliv-ta-fahivciv-u-sferi-farmacii>.
23. Про затвердження протоколів фармацевта : наказ МОЗ України від 05.01.2022 № 7. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0007282-22#Text>.

REFERENCES

1. Zarichkova, M. V., Mishyna, I. M. (2023). Doslidzhennia suchasnykh funktsionalnykh oboviazkiv farmatsevtichnykh pratsivnykiv ta nabuttia nymy navychok, adaptovanykh do umov sohodennia. *Sotsialna farmatsiia v okhoroni zdorovia*, 9(4), 39-54. DOI: 10.24959/sphhcj.23.308.
2. Mishchenko, O. Ya., Ostashko, V. F., Kovalenko, Ye. M., Hreshko, Yu. I. (2019). Otsinka profesiinoi aktyvnosti farmatsevtiv aptechnykh zakladiv shchodo yikh oboviazkiv u zabezpechenni bezpechnoho zastosuvannia likiv. *Sotsialna farmatsiia v okhoroni zdorovia*, 5(2), 36-42. DOI: 10.24959/sphhcj.19.150.
3. Kremin, Y., Lesyk, L., Lesyk, R., Levytska, O., Hromovik, B. (2023). Detailing the Ten Main Professional Roles of a Pharmacist to Provide the Scope of Professional Functions. *Scientia Pharmaceutica*, 91(1). DOI: 10.3390/scipharm91010005.
4. Osnovy zakonodavstva Ukrainy pro okhoronu zdorovia : Zakon Ukrainy vid 19.11.1992 № 2801-XII. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2801-12#Text>.
5. Pro zatverdzhennia Kontseptsii rozvytku farmatsevtichnoho sektora haluzi okhorony zdorovia Ukrainy na 2011-2020 roky : nakaz MOZ Ukrainy vid 13.09.2010 № 769. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0769282-10#Text>.
6. WHO Technical Report Series, № 885, 1999. Good pharmacy practice in community and hospital pharmacy setting. P. 93-101. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42145/WHO_TRS_885.pdf?sequence=1.
7. Pro zatverdzhennia Poriadku zdiisnennia farmakonahliadu : Nakaz MOZ Ukrainy vid 27.12.2006 № 898. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0073-07#Text>.
8. Lysenko, L. (2019). Profilnyi parlamentskyi komitet predstaviv novu Kontseptsiiu rozvytku farmatsevtichnoho sektora. *Shchotyzhnevyyk APTEKA*, 40(1211). Available at: <https://www.apteka.ua/article/518598>.
9. WHO Technical Report Series, № 961, 2011. Good pharmacy practice: standards for quality of pharmacy services (joint FIP/WHO). P. 310-323. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44079/WHO_TRS_961_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
10. Pro nstanovu VOOZ ta MFF «Nalezha aptechna praktyka: Standarty yakosti aptechnykh posluh» : Nakaz MOZ Ukrainy vid 30.05.2013 № 455. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0455282-13#Text>.
11. Pro likarski zasoby : Zakon Ukrainy vid 28.07.2022 №2469-IX. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2469-20#Text>.
12. Pishkovidna dostupnist mizh aptekamy, vdoshkonalennia kvalifikatsiinykh vymoh do farmatsevtichnykh pratsivnykiv. Rezultaty zasidannia robochoi hrupy pry Derzhliksluzhbi. *Shchotyzhnevyyk APTEKA*. 2024. № 36 (1457). Available at: <https://www.apteka.ua/article/702308>.
13. Hala, L. O. (2019). Analiz efektyvnosti vykonannia aptekoiu osnovnykh funktsii za umov uprovdzhennia Naleznoi aptechnoi praktyky v Ukraini. *Sotsialna farmatsiia v okhoroni zdorovia*, 5(3), 48-56. DOI: 10.24959/sphhcj.19.162.
14. Kryvoviaz, O. V., Koval, V. M. (2023). Porivnialna kharakterystyka funktsionuvannia aptechnykh zakladiv v Ukraini ta krainakh Yevropeiskoho ekonomichnoho prostoru. *Farmats. Zhurn*, 78(6), 30-45. DOI: 10.32352/0367-3057.6.23.03.
15. Pharmacist-led tobacco cessation services: Global intelligence report, 2024. FIP, 2024. Available at: <https://www.fip.org/file/5873>.
16. Leveraging pharmacy to deliver life-course vaccination: An FIP global intelligence report, 2024. FIP, 2024. Available at: <https://www.fip.org/file/5848>
17. Managing musculoskeletal pain in the community pharmacy: Report from an international insight board, 2024. FIP, 2024. Available at: <https://www.fip.org/file/5758>.
18. Pharmacy-based point-of-care testing: A global intelligence report, 2024. FIP, 2024. Available at: <https://www.fip.org/file/5911>.
19. Orhanizatsiia ta ekonomika farmatsii. Ch. 1. Orhanizatsiia farmatsevtichnoho zabezpechennia naselennia: nats. pidruch / A. S. Nemchenko ta in. ; za red. A. S. Nemchenko. Kharkiv, 2015. 360 p.
20. Panfilova, H. L., Nemchenko, A. S., Hala, L. O. (2019). Kontseptualni zasady funktsionuvannia aptechnykh zakladiv u patsiientoorientovanii modeli rozvytku vitchyznianoii systemy farmatsevtichnoho zabezpechennia naselennia za umov medychnoho strakhuvannia : metod. rek. Kyiv, 32 p.
21. Dovidnyk kvalifikatsiinykh kharakterystyk profesii pratsivnykiv (vypusk 78 «Okhorona zdorovia») : Nakaz MOZ Ukrainy vid 29.03.2002 № 117. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/va117282-02#Text>.
22. НАК оприлюднило професійні стандарти професіоналів та фахівців у сфері фармації. 05.04.2023. Available at: <https://moz.gov.ua/uk/nak-zatverdilo-profesijni-standarti-profesionaliv-ta-fahivciv-u-sferi-farmacii>.
23. Pro zatverdzhennia protokoliv farmatsevt: nakaz MOZ Ukrainy vid 05.01.2022 № 7. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0007282-22#Text>.

Відомості про авторів:

Гала Л. О., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри організації та економіки фармації, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. E-mail: hala.liliia@nmu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0086-2706>

Косяченко К. Л., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри організації та економіки фармації, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. E-mail: kosleokos@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0472-2196>

Полова Ж. М., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри аптечної та промислової технології ліків, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. E-mail: zpolova@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1874-2841>

Коношевич Л. В., кандидат фармацевтичних наук, асистентка кафедри організації та економіки фармації, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. E-mail: lvkonoshevych@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5937-1088>

Information about the authors:

Hala L. O., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Organization and Economy of Pharmacy, Bogomolets National Medical University. E-mail: hala.liliia@nmu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0086-2706>

Kosyachenko K. L., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Organization and Economy of Pharmacy, Bogomolets National Medical University. E-mail: kosleokos@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0472-2196>

Polova Zh. M., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Pharmacy and Industrial Technology of Drugs, Bogomolets National Medical University. E-mail: zpolova@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1874-2841>

Konoshevych L. V., Candidate of Pharmacy (PhD), teaching assistant of the Department of Organization and Economy of Pharmacy, Bogomolets National Medical University. E-mail: lvkonoshevych@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5937-1088>

Надійшла до редакції 24.09.2024 р.

Н. В. Хохленкова, А. В. Соловійова, О. В. Філіпцова, О. С. Калюжная, Н. В. Двінських
Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Сучасний стан та перспективи використання пептидів у космецевтиці

Метою дослідження є аналіз асортименту пептидів у складі космецевтичних засобів.

Матеріали та методи. Матеріалами дослідження були публікації у наукових періодичних виданнях. У дослідженні застосовано методи контент-аналізу, порівняльного, логічного, аналітичного та узагальнення інформації.

Результати та їх обговорення. Аналіз даних наукової літератури продемонстрував, що біоактивні пептиди різного походження широко використовують як активні інгредієнти космецевтичних засобів. У 2022 році світовий ринок синтезу косметичних пептидів оцінювали в 195,3 млн доларів США. Ринок розширюється завдяки зростанню споживчого попиту на засоби для догляду за шкірою та засоби проти старіння. Споживачі переходять до цілісного підходу до краси, цінуючи продукти, які не лише забезпечують миттєві результати, а й підтримують природні процеси шкіри. Пептиди, завдяки своєму багатогранному впливу, ідеально відповідають цій тенденції, сприяючи відновленню пружності й еластичності шкіри зсередини, забезпечуючи тривалий позитивний результат. Їх можна застосовувати для розв'язання таких конкретних проблем шкіри, як гіперпігментація, акне та запалення. За механізмом дії біологічно активні пептиди класифікують на пептиди-носії, сигнальні пептиди, пептиди-інгібітори нейромедіаторів та пептиди-інгібітори ферментів. Пептиди-носії полегшують транспортування кофакторів, як-от мідь і марганець, через шкірний бар'єр. Обидва кофактори необхідні для ферментативних реакцій, що беруть участь у запобіганні старінню та загоєнню ран. Трипептид міді-1 і трипептид марганцю-1 є прикладами пептидів-носіїв, що їх успішно використовують для зменшення тонких ліній, зморшок і гіперпігментації, пов'язаної з фотостарінням. Сигнальні пептиди, або матрикіни, отримують з таких білків позаклітинного матриксу, як колаген, еластин і фібронектин. Матрикіни взаємодіють зі специфічними рецепторами, що стимулюють синтез, відновлення та ремоделювання позаклітинного матриксу. Зазначені пептиди також регулюють активність певних ключових ферментів, які беруть участь у процесі старіння, зокрема колагенази, елстази, тирозинази та гіалуронідази. Пептиди-інгібітори нейромедіаторів є найновішими космецевтичними пептидами. Подібно до ботулінічних токсинів, вони запобігають вивільненню ацетилхоліну, нейромедіатора, відповідального за скорочення м'язів. Пригнічення цього процесу розслаблює м'язи обличчя, запобігаючи утворенню тонких ліній і зморшок. Пептиди-інгібітори нейромедіаторів є безпечнішою альтернативою традиційному лікуванню ботулінічним токсином з меншою кількістю потенційних побічних ефектів. Пептиди-інгібітори ферментів стали популярними активними інгредієнтами в анти-ейдж косметичних засобах. Цей клас пептидів пригнічує активність певних ферментів, які беруть участь у різних біохімічних процесах шкіри. Їх застосування в космецевтиці полягає в контролюванні або гальмуванні тих процесів, які спричиняють пошкодження шкіри, старіння або втрату еластичності.

Висновки. Дослідження пептидів для використання в космецевтиці відкрило нові перспективи в догляді за шкірою та естетичній медицині. Біоактивні пептиди різного походження – з рослин, тварин, морських організмів та їстівних комах – проявляють широкий спектр властивостей, зокрема антивікову, антиоксидантну, протизапальну та антимікробну дію. Пептиди відкривають нові горизонти у створенні інноваційних космецевтичних засобів, особливо в поєднанні з такими активними компонентами, як антиоксиданти чи ретиноїди. Їхня безпека, здатність до біодеградації та точковий вплив роблять пептиди привабливим інгредієнтом для розв'язання різних дерматологічних проблем без побічних ефектів, властивих більш агресивним методам корекції шкіри.

Ключові слова: космецевтичні засоби; біологічно активні пептиди

N. V. Khokhlenkova, A. V. Soloviova, O. V. Filiptsova, O.S. Kaliuzhnaia, N. V. Dvinskykh
National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The current state and prospects of using peptides in cosmeceuticals

Aim. To analyze the range of peptides in cosmeceuticals.

Materials and methods. The study materials were publications in scientific periodicals. The study used methods of content analysis, comparative, logical, analytical methods and generalization of information.

Results. The analysis of scientific literature data has shown that bioactive peptides of various origins are widely used as active ingredients in cosmeceuticals. In 2022, the global market for the synthesis of cosmetic peptides was estimated in 195.3 million USD. The market is expanding due to the growing consumer demand for skin care and anti-ageing products. Consumers are shifting towards a holistic approach to beauty, appreciating products that not only provide instant results, but also support the skin's natural processes. Peptides, with their various benefits, perfectly match this approach by promoting skin elasticity from the inside, providing a long-lasting positive result. Peptides can be used to address specific skin problems, such as hyperpigmentation, acne and inflammation. According to the mechanism of action, biologically active peptides are classified as carrier peptides, signal peptides, neurotransmitter inhibitor peptides and enzyme inhibitor peptides. Carrier peptides facilitate the transport of cofactors, such as copper and manganese, across the skin barrier. Both cofactors are essential for enzymatic reactions involved in preventing aging and wound healing. Copper tripeptide-1 and manganese tripeptide-1 are examples of carrier peptides that have been successfully used to reduce fine lines, wrinkles and hyperpigmentation associated with photoaging. Signal peptides or

matrikines are derived from extracellular matrix proteins, such as collagen, elastin and fibronectin. Matrikines interact with specific receptors that stimulate the synthesis, repair and remodeling of the extracellular matrix. These peptides also regulate the activity of certain key enzymes involved in the aging process, such as collagenase, elastase, tyrosinase and hyaluronidase. Neurotransmitter inhibitor peptides are the latest cosmeceutical peptides. Similar to botulinum toxins, these peptides prevent the release of acetylcholine, a neurotransmitter responsible for muscle contraction. Inhibiting this process relaxes facial muscles, preventing the formation of fine lines and wrinkles. Neurotransmitter inhibitor peptides are a safer alternative to traditional botulinum toxin treatment with fewer potential side effects. Enzyme inhibitor peptides have become popular active ingredients in anti-ageing cosmetics. This class of peptides inhibits the activity of certain enzymes involved in various biochemical processes of the skin. Their application in cosmeceuticals is to control or inhibit those processes that cause skin damage, aging or loss of elasticity.

Conclusions. The study of peptides for use in cosmeceuticals has opened new prospects in skin care and aesthetic medicine. Bioactive peptides of various origins – from plants, animals, marine organisms, and edible insects – exhibit a wide range of properties, including antiaging, antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial effects. Peptides open new horizons in the creation of innovative cosmeceuticals, especially when combined with other active components, such as antioxidants or retinoids. Their safety, ability to biodegrade and spot impact make peptides an attractive ingredient for solving various dermatological problems without the side effects of more aggressive skin correction methods.

Keywords: *cosmeceuticals; bioactive peptides*

Вступ. Серед багатьох аспектів, які сприяють здоров'ю кожної людини, важливу роль відіграє здоров'я шкіри, про що свідчить значне зростання ринку засобів для догляду за нею. Це широкий сегмент ринку, який варіюється від суто декоративної косметики до дерматологічних продуктів, зокрема так званих космецевтичних засобів, які займають проміжне положення між косметичними засобами та лікарськими препаратами [1, 2].

Використання космецевтичних засобів, особливо для боротьби зі старінням, активно розвивається. Активні інгредієнти таких засобів зазвичай природного походження, хоча також використовують синтетичні похідні, які проявляють різноманітні корисні властивості, зокрема антиоксидантну, протизапальну та антимікробну дію [1, 3, 4].

На сьогодні пептиди все більше викликають інтерес як активні фармацевтичні інгредієнти завдяки простоті їх синтезу та можливості модифікації. Крім того, пептиди є безпечними та нетоксичними альтернативами білкам з високою молекулярною масою [5, 6].

Метою дослідження є аналіз асортименту пептидів у складі космецевтичних засобів.

Матеріали та методи. Матеріалами дослідження були публікації у наукових періодичних виданнях. У дослідженні застосовано методи контент-аналізу, порівняльного, логічного, аналітичного та узагальнення інформації.

Результати та їх обговорення. Пептиди увійшли в космецевтичну сферу давно, коли Лорен Пікарт запропонував синтетичний пептид GHK як сигнальний пептид, що посилює продукування колагену та діє як пептид-носіє у комплексі з міддю(II). Це був перший пептид міді, доданий у засоби догляду за шкірою [7-9]. Завдяки їх універсальності було розроблено безліч пептидів, що мають космецевтичний інтерес, у відповідь на найчастіші та не повністю задоволені запити ринку [2, 10]. За останнє десятиліття розробка активних пептидів відкрила нове поле в косметичному догляді за шкірою.

Аналіз даних наукової літератури продемонстрував, що біоактивні пептиди різного походження широко використовують як активні інгредієнти космецевтичних засобів для лікування різних захворювань

шкіри [2, 5, 11, 12]. У 2022 році світовий ринок синтезу косметичних пептидів оцінювали в 195,3 млн доларів США. Ринок розширюється завдяки зростанню споживчого попиту на засоби для догляду за шкірою та засоби проти старіння [10, 11, 13].

Споживачі переходять до цілісного підходу до краси, цінуючи продукти, які не лише забезпечують миттєві результати, а й підтримують природні процеси шкіри. Пептиди з їхніми різноманітними перевагами добре вписуються в цей підхід, сприяючи пружності шкіри зсередини. Пептиди мають великий потенціал у вирішенні конкретних проблем шкіри, як-от гіперпігментація, акне та запалення.

Пептиди – це короткі полімери, утворені шляхом зв'язування в певному порядку кількох α -амінокислот. Пептиди відрізняються від білків за кількістю амінокислот, які вони містять; FDA визначає пептид як полімер, що складається з менш ніж 40 амінокислот (500–5000 Да). Найкоротші пептиди, що містять у своїй структурі дві амінокислоти, називають дипептидами [1-3, 14].

Пептиди та протеїни, що їх зазвичай використовують у косметичних цілях, залежно від механізму дії класифікують на чотири групи:

- сигнальні пептиди,
- пептиди-інгібітори ферментів,
- пептиди-інгібітори нейромедіаторів
- пептиди-носії, або переносники [5, 11, 13].

Сигнальні пептиди. До цього класу космецевтичних засобів належать пептиди, здатні модулювати білковий обмін у шкірі та посилювати продукування колагену. Власне, їх назва походить від здатності сигналізувати або імітувати сигнал, що виникає під час синтезу білків позаклітинного матриксу [1, 6, 15].

Сигнальні пептиди, або матрикіни, отримують з таких білків позаклітинного матриксу, як колаген, еластин і фібронектин. Матрикіни взаємодіють зі специфічними рецепторами, що стимулюють синтез, відновлення та ремоделювання позаклітинного матриксу. Зазначені пептиди також регулюють активність певних ключових ферментів, які беруть участь у процесі старіння, зокрема колагенази, еластази, тирозинази та гіалуронідази (табл.) [1, 13-15].

Таблиця

Пептиди, що входять до складу космецевтичних засобів

Назва пептиду	Первинна будова	Показання до застосування	Механізм дії
Пептиди-носії			
Трипептид міді-1	Cu(II) H-Gly-His-Lys-OH (Cu-GHK)	Омолодження, загоєння ран, гіперпігментація	Мідь діє як кофактор для лізи-локсидази, що бере участь у біогенезі колагену та еластину. Регулює активність колагенази. Має протизапальні та антиоксидантні властивості. Стимулює ангиогенез. Пригнічує синтез меланіну
Трипептид марганцю-1	Mn(II) H-Gly-His-Lys-OH (Mn-GHK)	Гіперпігментація, пов'язана з фотостарінням	Марганець діє як кофактор супероксиддисмутази – антиоксиданту, який захищає шкіру від фотоокислювального пошкодження
Сигнальні пептиди (матрикіни)			
Пальмітоїлтрипептид-1 (Biopeptide CL™)	Pal-Gly-His-Lys-OH (GHK)	Антивікова дія (зменшує зморшки)	Стимулює синтез колагену та глікозаміногліканів
Пальмітоїл трипептид-5 (Syn®-Coll)	Pal-Lys-Val-Lys-OH (KVK)	Антивікова дія (по-кращує пружність та еластичність шкіри), гіперпігментація	Стимулює TGF-β для індукції синтезу колагену. Пригнічує деградацію колагену матричними металопротеїназами. Пригнічує синтез меланіну
Пальмітоїл пентапептид-4 (Matrixyl®)	Pal-Lys-Thr-Thr-Lys-Ser-OH (KTTKS)	Антивікова дія (зменшує середні та глибокі зморшки)	Стимулює продукування білків позаклітинного матриксу, наприклад, колагену (тип I, III і IV), еластину, фібронектину і глікозаміноглікану
Комбінація пальмітоїлтрипептиду-1 та пальмітоїлтетрапептиду-7 (Matrixyl 3000™)	Pal-Gly-His-Lys-OH (GHK) та Pal-Gly-Gln-Pro-Arg-OH (GQPR)	Антивікова дія (підвищення пружності, усунення наслідків фотопшкодження)	Стимулює продукування білків позаклітинного матриксу, наприклад, колагену (тип I, III і IV), еластину, фібронектину і глікозаміноглікану
Трипептид-10 цитрулін (Decorinyl®)	H-Lys-Asp-Ile-Cit-NH ₂ (KDI-Cit)	Антивікова дія (підвищує пружність та еластичність шкіри)	Імітує функцію декорину для регуляції фібрилогенезу колагену
Гептапептид (Perfection Peptide P7™)	Ac-Asp-Glu-Glu-Thr-Gly-Glu-Phe-OH (DEETGEF)	Захист від фотостаріння	Стимулює NRF2-залежні антиоксидантні ферменти для захисту клітинної ДНК від пошкодження ультрафіолетом
Декапептид (SA1-III або KP-1)	Ac-Met-Gly-Lys-Val-Val-Asn-Pro-Thr-Gln-Lys (MGKVVNPTQK)	Антивікова дія (підвищує пружність та еластичність шкіри)	Запобігає деградації колагену шляхом інгібування протеаз. Не впливає на синтез колагену
Олігопептид-68 (β-WHITE™)	H-Arg-Asp-Gly-Gln-Ile-Leu-Ser-Thr-Trp-Tyr-OH (RDGQILSTWY)	Відбілювальний засіб у лікуванні мелазми	Пригнічує MITF, що бере участь у виробництві меланіну
Пептиди-інгібітори нейромедіаторів			
Ацетилгексапептид-3 (Argireline®)	Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH ₂ (EEMQRR)	Антивікова дія (зменшує зморшки)	Послідовність білка SNAP-25, яка запобігає утворенню комплексу SNARE і подальшому вивільненню ацетилхоліну
Пентапептид-3 (Vialox)	H-Gly-Pro-Arg-Pro-Ala-NH ₂ (GPRPA)		Антагоніст ацетилхолінових рецепторів
Пентапептид-18 (Leuphasyl®)	H-Tyr-Ala-Gly-Phe-Leu-OH (YAGFL)		Зменшує вивільнення ацетилхоліну в синаптичній щілині
Трипептид-3 (Syn®-Ake)	H-β-Ala-Pro-Dab-NH-бензил x 2AcOH		Антагоніст ацетилхолінових рецепторів

Пептиди, що моделюють колаген. Пальмітоїл-пентапептид (Pal-KTTKS) – сигнальний пептид, синтезований з фрагмента проколагену I. Він стимулює продукування колагену I, III і VI, а також фібронектину, еластину та глікозаміноглікану, його часто використовують у засобах проти зморшок і старіння (рис. 1) [6].

Цей пептид містить 5 амінокислот, з'єднаних аліфатичним ланцюгом із 16 атомами вуглецю, покращує проникність молекули через ліпідну структуру шкіри [2, 3].

Пальмітоїл-трипептид-1 (Pal-GHK, Pal-трипептид 1) – синтетичний пептид, що складається з короткого ланцюга з 3 амінокислот (також відомого як пептид GHK [фрагмент колагену типу I], або гліцин-гістидин-лізин), з'єднаних через амідний зв'язок на N-кінці з пальмітиновою кислотою (рис. 2) [6].

Дослідження *in vitro* та *in vivo* довели, що Pal-GHK стимулює синтез колагену та глікозаміногліканів. Його часто використовують у косметичних засобах проти старіння та засобах для зволоження [5, 11].

Palmitoyl tripeptide-3/5 – невеликий трипептид, що імітує послідовність трипептиду тромбоспондину I та сприяє утворенню колагену; є синтетичним сигнальним пептидом, який імітує дію тромбоспондину, що змушує послідовність Arg-Phe-Lys зв'язуватися з неактивною формою β -фактора росту та який додатково індукує вивільнення фактора росту- β в активну форму (рис. 3) [6].

У косметичних препаратах цей пептид використовують як зміцнювальний агент, як засіб для зволоження шкіри, як засіб проти зморшок, а також для покращення вигляду розтяжок [3, 6, 10].

Пептиди, що модулюють еластин. Еластичні волокна є важливими компонентами позаклітинного матриксу і складаються з двох елементів: мікроволокон і матричного еластину. Природне старіння, а також вплив ультрафіолетового випромінювання викликають дегенеративні зміни в структурі еластичних волокон [5, 11, 13].

Валін-гліцин-валін-аланін-пролін-гліцин (GVGAPG) – гексапептид, який має високу специфічність до

молекули еластину та бере участь у саморегуляції синтезу еластину за механізмом негативного зворотного зв'язку (рис. 4).

GVGAPG не тільки стимулює синтез колагену, а й знижує синтез еластину. Він також є потужним стимулятором фібробластів у шкірі людини та входить до складу косметичних засобів для забезпечення дермальної реконструкції і хемотаксису для реструктуризації та відновлення [2, 4].

Пептиди-інгібітори нейромедіаторів. Пептиди-інгібітори нейромедіаторів впливають на передання нервових імпульсів між нервовими клітинами (нейронами) та м'язовими клітинами, знижуючи активність нейромедіаторів, які беруть участь у цьому процесі. У косметології такі пептиди часто використовують з метою розслаблення м'язів і зменшення ризику утворення мимічних зморшок (табл.) [2, 11, 12].

Нейромедіатори, як-от ацетилхолін, передають сигнали від нервів до м'язів, викликаючи скорочення м'язів. Це скорочення м'язів може спричинити появу зморшок, особливо на ділянках обличчя, що часто зазнають мимічних рухів (лоб, куточки очей, навколо рота). Пептиди-інгібітори нейромедіаторів блокують або знижують активність таких нейромедіаторів, що призводить до розслаблення м'язів, а отже, до зменшення глибини зморшок [2, 6, 15].

Пептиди-інгібітори нейромедіаторів стали основою багатьох косметичних засобів, що спрямовані на боротьбу з мимічними зморшками. Вони є безпечною альтернативою таким більш агресивним методам, як ін'єкції ботоксу, бо їхня дія є тимчасовою і менш інвазивною. Хоча ефект від таких пептидів не є таким сильним, як після застосування ботулотоксину, їх використання забезпечує поступове зменшення зморшок за тривалого використання [10, 11, 16].

Одним із найбільш відомих пептидів цієї групи є аргирелін (ацетилгексапептид-8) (рис. 5).

Ацетил-глутаміл-глутаміл-метоксил-глутамініл-аргініларгініламід (аргірелін, Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂) пригнічує вивільнення нейромедіаторів, бо перешкоджає утворенню та стабілізації

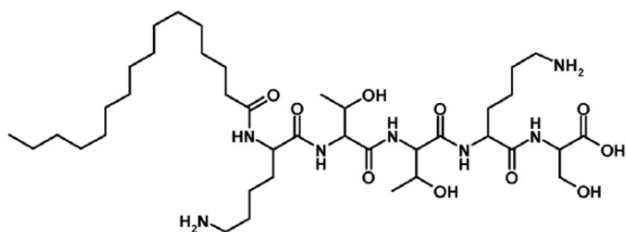


Рис. 1. Хімічна структура пальмітоїл-пентапептиду (Pal-KTTKS)

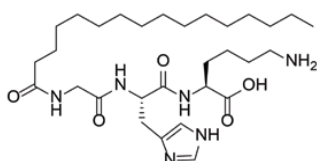


Рис. 2. Хімічна структура пальмітоїл-трипептиду-1 (Pal-GHK, Pal-трипептид 1)

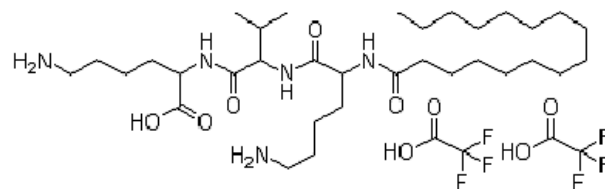


Рис. 3. Хімічна структура Palmitoyl tripeptide-3/5

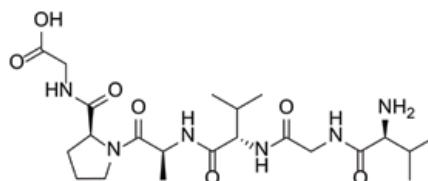


Рис. 4. Хімічна структура GVGAPG

білкового комплексу, необхідного для докінгу везикули виділення ацетилхоліну [6, 11, 15].

Він діє на комплекс SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor), який є ключовим для вивільнення ацетилхоліну в нервових закінченнях. Інгібування цього комплексу призводить до зменшення м'язової активності, що робить цей пептид популярним в антивікових косметичних продуктах як безін'єкційна альтернатива ботулотоксину (ботоксу).

Пептиди-носії. Пептиди-носії виконують роль посередника в транспортуванні важливої речовини, але їх головне застосування полягає в доставі важливих мікроелементів (зокрема Cu та Mn), необхідних для загоєння ран і ферментативних процесів (табл.) [10, 11, 13].

Перші пептиди-носії, представлені на ринку, було розроблено для транспортування Cu.

Cu(II), один із найважливіших іонів металів в організмі людини, може бути стабілізований або доставлений у клітини, зокрема, за допомогою пептидів. Він бере участь у різних процесах, як-от ферментативні реакції, загоєння ран та ангіогенез. У косметичних засобах мідь є важливим кофактором для лізилоксидази під час утворення колагену або еластину та відіграє важливу роль у ферментативних реакціях, пов'язаних із процесом загоєння ран [6, 7, 9].

Трипептид міді-1 (Cu-GHK). Першим використовуваним і найбільш вивченим пептидом-носієм є GHK (гліцил-L-гістидил-L-лізин). Його вперше виділили із сироваткового альбуміну людини й запропонували як пальмітоїльовану похідну речовину. GHK продемонстрував здатність спонтанно комплексувати Cu(II), полегшуючи її всмоктування [7, 9].

Зв'язування GHK з міддю, скорочено GHK-Cu (рис. 6), призвело до створення сполуки, використаної в кремах для загоєння ран, а потім її було адаптовано для косметики для мінімізації появи тонких ліній і зморшок [6].

Пептиди-інгібітори ферментів. Це клас пептидів, що пригнічують активність певних ферментів, залучених у різні біохімічні процеси шкіри. Їх застосування в косметичній продукції полягає в контролюванні або гальмуванні тих процесів, які спричиняють пошкодження шкіри, старіння або втрату еластичності (табл.) [5, 6, 11].

Ферменти виконують важливі функції в шкірі, зокрема руйнують колаген та еластин, які є структурними компонентами шкіри. Наприклад, такі ферменти, як матриксні металопротеїнази (ММР) руйнують колаген у шкірі, що призводить до її старіння та появи зморшок. Пептиди-інгібітори ферментів діють шляхом блокування активності таких ферментів, запобігаючи їхній руйнівній дії [3, 5, 6, 11].

Інгібітори матриксних металопротеїназ (ММР). Це група пептидів, що пригнічують активність ММР, які відповідальні за руйнування білків позаклітинного матриксу, зокрема колагену й еластину. З віком або під впливом зовнішніх чинників активність ММР збільшується, що сприяє старінню шкіри.

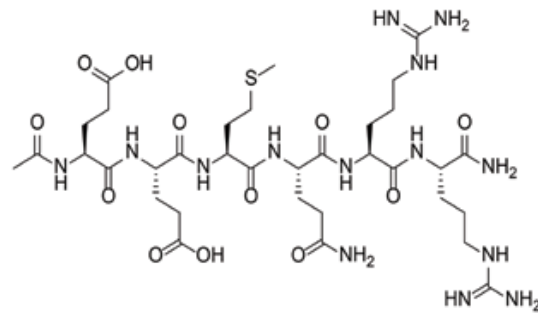


Рис. 5. Хімічна структура Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH₂

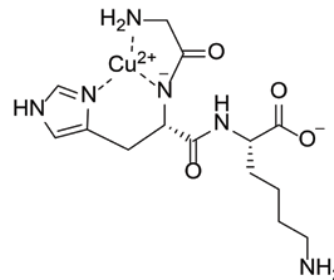


Рис. 6. Хімічна структура GHK-Cu

Пептиди-інгібітори можуть сповільнювати зазначені процеси, забезпечуючи збереження молодого вигляду шкіри [1, 6, 14].

Інгібітори тирозинази. Тирозиназа – фермент, відповідальний за синтез меланіну, пігменту шкіри. Надмірна активність цього ферменту може призводити до гіперпігментації, темних плям або нерівного тону шкіри. Пептиди-інгібітори тирозинази блокують його активність, що сприяє освітленню шкіри та зменшенню проявів пігментації.

Прикладом цього типу пептидів є Oligopeptide-68, який знижує синтез меланіну, пригнічуючи активність тирозинази. Як результат, він сприяє освітленню шкіри, вирівнюванню її тону та зменшенню проявів пігментних плям [2, 11, 16].

Інгібітори еластази. Еластаза – фермент, який руйнує еластин, основний компонент еластичних волокон у шкірі. З віком або через пошкодження шкіри (наприклад, ультрафіолетовими променями) активність еластази може підвищуватися, що призводить до втрати еластичності шкіри. Інгібітори еластази допомагають запобігати цьому процесу, підтримуючи пружність шкіри [11, 13, 16].

Біоактивні пептиди з перспективними властивостями надходять з різних джерел, як-от хімічний синтез і природні джерела [2, 13, 16].

Хімічний синтез передбачає використання суміші амінокислот як вихідного матеріалу, що дозволяє отримати пептиди з різними амінокислотними послідовностями та комбінаціями.

Такі природні джерела, як рослини, тварини та морські джерела, можна використовувати для виділення біоактивних пептидів за допомогою різних методів (наприклад, ферментативний гідроліз, мікробна ферментація, хімічне розщеплення, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), електромембранне

фракціонування за допомогою електродіалізу з ультрафільтрацією тощо) [13, 17, 18].

Рослини добре відомі як багате джерело білків, які можуть виконувати кілька функцій в організмі людини (наприклад, протидіабетичну, імуномодулювальну, антигіпертензивну, антимікробну та антиоксидантну дію) [4, 19]. Пептиди було отримано з бобових, як-от соя (джерело протиракового поліпептиду RGD, луназину), їстівних кореневих, як-от імбир (джерело антигіпертензивного VTVM, протиракового RALGWSCL, антиоксидантних та антимікробних пептидів) та куркума (джерело антиоксидантного пептиду WTLTPLTPA та антиагрегантних пептидів CACGGV, DVDP та CGVGAA) [6, 13, 14, 18].

Пептиди тваринного походження також привертають все більший інтерес як перспективні засоби для застосування в космецевтиці. Сировиною для отримання пептидів зазвичай є молоко, м'ясо, риба та яйця [6, 10, 13, 20]. Пептиди тваринного походження можуть знижувати артеріальний тиск, стимулювати імунну систему, пригнічувати активність пролін-специфічної ендопептидази, індукувати скорочення гладкої мускулатури, виявляти антибактеріальну та антимікробну дію та покращувати поживну цінність харчових продуктів [13].

Молочні білки (зокрема ослине молоко, молоко буйволів і козяче молоко) вважають найважливішим джерелом пептидів тваринного походження.

Яйця, на які припадає близько 11 % щоденного споживання білка з високоякісними білками, визнано перспективними джерелами біоактивних пептидів. Пептиди, отримані з яєчних білків, переважно екстрагують за допомогою методу ферментативного гідролізу (наприклад, трипсин, пепсин, хімотрипсин, термолізін і алкалаза). Вони мають кілька корисних властивостей – антиоксидантну, антигіпертензивну,

протимікробну, протипухлинну, протидіабетичну та імуномодулювальну [10, 11, 13].

Пептиди морського походження також мають високу поживну цінність і відмінні космецевтичні властивості. Зокрема, морське середовище є більш біологічно різноманітним і завдяки унікальній адаптації морських організмів до темряви, холоду та середовища високого тиску вони здатні експресувати різні білки, які виявляють різноманітну біоактивність, зокрема антиоксидантну, нейропротекторну, протидіабетичну, імуномодулювальну, антибактеріальну, антипроліферативну та антиоксидантну [11, 13, 16, 17].

Наприклад, водорості *Porphyra dioica* було використано для вилучення восьми пептидних послідовностей шляхом ферментативного гідролізу та підходів ВЕРХ з оберненою фазою [13].

Сьогодні новим джерелом пептидів вважають їстівних комах, які є гарним джерелом білка. Біологічно активні пептиди, отримані з комах, характеризуються різними властивостями, зокрема антиоксидантною, протизапальною, протидіабетичною та антимікробною [11, 13, 21].

Висновки та перспективи подальших досліджень. Аналіз даних наукової літератури дозволяє висувати, що пептиди мають значний терапевтичний потенціал у боротьбі зі старінням та деякими дерматологічними захворюваннями.

Дослідження біологічно активних пептидів для використання в космецевтиці відкрило нові перспективи в догляді за шкірою та естетичній медицині. Біоактивні пептиди різного походження – з рослин, тварин, морських організмів та їстівних комах – проявляють широкий спектр корисних властивостей, зокрема антивікову, антиоксидантну, протизапальну та антимікробну.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Crous C., Pretorius J., Petzer A. Overview of popular cosmeceuticals in dermatology. *Skin Health Dis.* 2024. Vol. 4, № 2. P. e340. DOI: 10.1002/ski2.340.
2. Lima T. N., Moraes C. P. Bioactive peptides: applications and relevance for cosmeceuticals. *Cosmetics.* 2018. Vol. 5, № 1. doi: 10.3390/cosmetics5010021.
3. Ferreira M. S., Magalhães M. C., Sousa-Lobo J. M., Almeida I. F. Trending anti-aging peptides. *Cosmetics.* 2020. Vol. 7, № 4. P. 91. DOI: 10.3390/cosmetics7040091.
4. Mangoni M. L., Dermott A. M., Zasloff M. Antimicrobial peptides and wound healing: biological and therapeutic considerations. *Exp. Dermatol.* 2016. Vol. 25. P. 167-173. DOI: 10.1111/exd.12929.
5. Cosmeceutical peptides in the framework of sustainable wellness economy / F. Errante et al. *Front Chem.* 2020. Vol. 8. P. 572923. DOI: 10.3389/fchem.2020.572923.
6. Tatarina G., Zbancioc A. M. Antirid peptides in cosmeceutical formul. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice.* 2021. № 14. P. 111-116. DOI: 10.37897/RJPhP.2021.3.1.
7. Pickart L., Margolina A. Regenerative and protective actions of the GHK-Cu peptide in the light of the new gene data. *Int J Mol Sci.* 2018. Vol. 19, № 7. P. 1987. DOI: 10.3390/ijms19071987.
8. Pickart L., Vasquez-Soltero J. M., Margolina A. GHK peptide as a natural modulator of multiple cellular pathways in skin regeneration. *BioMed Res Int.* 2015. Vol. 2015. P.648108. DOI: 10.1155/2015/648108.
9. Pickart L., Thaler, M. M. Tripeptide in human serum which prolongs survival of normal liver cells and stimulates growth in neoplastic liver. *Nat. New Biol.* 1973. Vol. 243, № 124. P. 85-87. PMID: 4349963.
10. Varadraj V. P., Prasana B., Pankaj S. Topical peptides as cosmeceuticals. *Indian Journal of Dermatology and Leprology.* 2017. Vol. 83, № 1. P. 9-18. DOI: 10.4103/0378-6323.186500.
11. Akbarian M., Khani A., Eghbalpour S., Uversky V. N. Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *Int J Mol Sci.* 2022. Vol. 23, № 3. P. 1445. DOI: 10.3390/ijms23031445.

12. Aguilar-Toalá J. E., Hernández-Mendoza A., González-Córdova A. F. Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. *Peptides*. 2019. Vol. 122. P. 170-180. DOI: 10.1016/j.peptides.2019.170170.
13. Ngoc L. T. N., Moon J.-Y., Lee, Y. C. Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics. *Cosmetics* 2023. Vol. 10, № 4. P. 111. DOI: 10.3390/cosmetics10040111.
14. Schagen S. K. Topical peptide treatments with effective antiaging results. *Cosmetics*. 2017. Vol. 4, № 2. P. 16. DOI: 10.3390/cosmetics4020016.
15. Sivaraman K., Shanthi C. Matrikines for therapeutic and biomedical applications. *Life Sci*. 2018. Vol. 214. P. 22-33. doi: 10.1016/j.lfs.2018.10.056.
16. Peptides as active ingredients: a challenge for cosmeceutical industry / P. Ledwoń et al. *Chem Biodivers*. 2021. Vol. 18, № 2. P. e2000833. DOI: 10.1002/cbdv.202000833.
17. Siahaan E. A., Agusman Pangestuti R. Potential Cosmetic Active Ingredients Derived from Marine By-Products. *Marine Drugs*. 2022. Vol. 20, № 12. P. 734. DOI: 10.3390/md20120734.
18. Zhang, Q., Tong, X., Li, Y., Wang, H. Purification and characterization of antioxidant peptides from Alcalase-hydrolyzed soybean (*Glycine max* L.) hydrolysate and their cytoprotective effects in human intestinal Caco-2 cells. *J. Agric. Food Chem*. 2019. Vol. 67. P. 5772-5781. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01235.
19. Efficacy of bioactive peptides loaded on hyaluronic acid microneedle patches: a monocentric clinical study / M. Avcil et al. *J. Cosmet Dermatol*. 2020. Vol. 19, № 2. P. 328-337. DOI: 10.1111/jocd.13009.
20. Hong H., Fan H., Chalamaiah M. Preparation of low molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): current progress, challenges, and future perspectives. *Food Chemistry*. 2019. Vol. 301. P. 125-222. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125222.
21. Zielińska E., Baraniak B., Kara's M. Identification of antioxidant and anti-inflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Gryllos sigillatus*, *Tenebrio molitor*, *Schistocerca gregaria*). *Int. J. Food Sci. Technol*. 2018. Vol. 53. P. 2542-2551. DOI: 10.1111/ijfs.13848.

REFERENCES

1. Crous, C., Pretorius, J., Petzer, A. (2024). Overview of popular cosmeceuticals in dermatology. *Skin Health Dis.*, 4(2), e340. doi: 10.1002/ski2.34.0.
2. Lima, T. N., Moraes, C. P. (2018). Bioactive peptides: applications and relevance for cosmeceuticals. *Cosmetics*, 5(1), 21. doi: 10.3390/cosmetics5010021.
3. Ferreira, M. S., Magalhães, M. C., Sousa-Lobo, J. M., Almeida, I. F. (2020). Trending anti-aging peptides. *Cosmetics*, 7(4), 91. doi: 10.3390/cosmetics7040091.
4. Mangoni, M. L., Dermott, A. M., Zasloff, M. (2016). Antimicrobial peptides and wound healing: biological and therapeutic considerations. *Exp. Dermatol.*, 25, 167-173. doi: 10.1111/exd.12929.
5. Errante, F., Ledwoń, P., Latajka, R., Rovero, P., Papini, A. M. (2020). Cosmeceutical peptides in the framework of sustainable wellness economy. *Front Chem.*, 8, 572923. doi: 10.3389/fchem.2020.572923.
6. Tatarina, G., Zbancioc, A. M. (2021). Antirid peptides in cosmeceutical formul. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice.*, 14, 111-116. doi: 10.37897/RJPhP.2021.3.1.
7. Pickart, L., Margolina, A. (2018). Regenerative and protective actions of the GHK-Cu peptide in the light of the new gene data. *Int J Mol Sci.*, 19(7), 1987. doi: 10.3390/ijms19071987.
8. Pickart, L., Vasquez-Soltero, J. M., Margolina, A. (2015). GHK peptide as a natural modulator of multiple cellular pathways in skin regeneration. *BioMed Res Int.*, 2015, 648108. doi: 10.1155/2015/648108.
9. Pickart, L., Thaler, M. M. (1973). Tripeptide in human serum which prolongs survival of normal liver cells and stimulates growth in neoplastic liver. *Nat. New Biol.*, 243(124), 85-87. PMID: 4349963.
10. Varadraj, V. P., Prasana, B., Pankaj, S. (2017). Topical peptides as cosmeceuticals. *Indian Journal of Dermatology and Leprology.*, 83(1), 9-18. doi: 10.4103/0378-6323.186500.
11. Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., Uversky, V. N. (2022). Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *Int J Mol Sci.*, 23(3), 1445. doi: 10.3390/ijms23031445.
12. Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., González-Córdova, A. F. (2019). Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. *Peptides.*, 122, 170-180. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170170.
13. Ngoc, L. T. N., Moon, J.-Y., Lee, Y. C. (2023). Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics. *Cosmetics.*, 10(4), 111. doi: 10.3390/cosmetics10040111.
14. Schagen, S. K. (2017). Topical peptide treatments with effective antiaging results. *Cosmetics*, 4(2), 16. doi: 10.3390/cosmetics4020016.
15. Sivaraman K., Shanthi, C. (2018). Matrikines for therapeutic and biomedical applications. *Life Sci.*, 214, 22-33. doi: 10.1016/j.lfs.2018.10.056.
16. Ledwoń, P., Errante, F., Papini, A. M., Rovero, P., Latajka, R. (2021). Peptides as active ingredients: a challenge for cosmeceutical industry. *Chem Biodivers.*, 18(2), e2000833. doi: 10.1002/cbdv.202000833.
17. Siahaan, E. A., Pangestuti, A. R. (2022). Potential Cosmetic Active Ingredients Derived from Marine By-Products. *Marine Drugs.*, 20(12), 734. doi: 10.3390/md20120734.
18. Zhang, Q., Tong, X., Li, Y., Wang, H. (2019). Purification and characterization of antioxidant peptides from Alcalase-hydrolyzed soybean (*Glycine max* L.) hydrolysate and their cytoprotective effects in human intestinal Caco-2 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 67, 5772-5781. doi: 10.1021/acs.jafc.9b01235.
19. Avcil, M., Akman, G., Klokke, J., Jeong, D., Çelik, A. (2020). Efficacy of bioactive peptides loaded on hyaluronic acid microneedle patches: a monocentric clinical study. *J. Cosmet Dermatol.*, 19(2), 328-337. doi: 10.1111/jocd.13009.

20. Hong, H., Fan, H., Chalamaiah, M. (2019). Preparation of low molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): current progress, challenges, and future perspectives. *Food Chemistry*, 301, 125-222. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125222.
21. Zielińska, E., Baraniak, B., Kara's, M. (2018). Identification of antioxidant and anti-inflammatory peptides obtained by simulated gastrointestinal digestion of three edible insects species (*Gryllodes sigillatus*, *Tenebrio molitor*, *Schistocerca gregaria*). *Int. J. Food Sci. Technol.*, 53, 2542-2551. doi.org/10.1111/ijfs.13848.

Відомості про авторів:

Хохленкова Н. В., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Соловйова А. В., доктор філософії, асистентка кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: soloviova.alina@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2593-0338>

Філіпцова О. В., доктор біологічних наук, професор кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: philipsova@yahoo.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1297-1651>

Калюжная О. С., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>

Двінських Н. В., кандидат фармацевтичних наук, с. н. с., доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: begunova1203@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

Information about authors:

Khokhlenkova N. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>

Soloviova A. V., PhD, teaching assistant of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. Email: soloviova.alina@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2593-0338>

Filipsova O. V., Doctor of Biology (Dr. habil.), professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: philipsova@yahoo.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1297-1651>

Kaliuzhnaia O.S., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>

Dvinskykh N. V., Candidate of Pharmacy (PhD), senior researcher, associate professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: begunova1203@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3811-9317>

Надійшла до редакції 14.10.2024 р.

Vagif Abbasov¹, Nargiz Orujova¹, Ayaz Mammadov^{1,2}, Rana Jafarova¹,
Saida Ahmadbayova¹, Sevda Muradova³, Akhmedov Elshan Yunisovich⁴

¹ Institute of Petrochemical Processes named after academician Y.H. Mammadaliyev of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan

² Khazar University

³ Azerbaijan Medical University

⁴ National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The synthesis, antimicrobial activity and theoretical calculations of 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline

Aim. To synthesize 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline, as well as make theoretical calculations of its structure and study its antimicrobial properties.

Materials and methods. The synthesis procedures were performed in the presence of ionic liquid catalysts and under microwave conditions. The catalysts included 1-butyl-3-methylimidazolehydrosulfate, N-methylpyrrolidone perchlorate, and 1,4-dimethylpiperazinedihydrosulfate ionic liquids. Benzyl, ammonium acetate, p-aminoazobenzene and 4-(dimethylamino)benzaldehyde were taken as reagents. Ethanol was used as a solvent.

Results. The results of the conditions were compared and it was determined that the 1,4-dimethylpiperazinedihydrosulfate catalyst reacted under microwave conditions in a shorter time (19 min) with a higher yield (78.1 %). The structure of the compound synthesized was analyzed by ¹H, ¹³C NMR and IR spectroscopy. The theoretical calculations of the compound were determined using the density functional theory (DFT/B3LYP) method with a basic set of 6-31G(d,p). The geometry of the structure was optimized, bond lengths, angle degrees were given, and important quantum chemical parameters, such as HOMO, LUMO orbitals, reactivity, stability, electrophilicity, electronegativity, chemical softness, chemical hardness were calculated. It was found that the compound had a high stability ($\Delta E = 2.359$ eV) and a high biological activity ($\omega = 5.754$ eV). The antimicrobial activity of the sample against bacteria of *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. anthracoides* and *C. albicans* fungus was studied.

Conclusions. In this work, 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline has been synthesized from benzyl, ammonium acetate, p-aminoazobenzene and 4-(dimethylamino)benzaldehyde in the presence of microwave and ionic liquid catalysts. It has been determined that 1,4-dimethylpiperazinedihydrosulfate catalyst reacts under microwave conditions in a shorter time (19 min) with a higher yield (78.1 %). The compound has been tested as an antimicrobial agent against bacteria of *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. anthracoides* and *C. albicans* fungus, showing moderate and higher activity.

Keywords: imidazole; synthesis; microwave; ionic liquid catalysts; antimicrobial activity; theoretical calculations; stability

Варіф Аббасов¹, Наргіз Оруджова¹, Аяз Мамедов^{1,2}, Рана Джафарова¹, Саїда Ахмадбайова¹,
Севда Мурадова³, Елшан Ахмедов⁴

¹ Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Ю. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки

² Університет «Хазар»

³ Азербайджанський медичний університет

⁴ Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Синтез, антимікробна дія та теоретичні розрахунки 4-(4,5-дифеніл-1-(4-(фенілдіазеніл)феніл)-1H-імідазол-2-іл)-N,N-диметиланіліну

Мета роботи – дослідити синтез і антимікробні властивості 4-(4,5-дифеніл-1-(4-(фенілдіазеніл)феніл)-1H-імідазол-2-іл)-N,N-диметиланіліну, а також виконати теоретичні розрахунки будови цієї сполуки.

Матеріали та методи. Процедури синтезу здійснювали в присутності іонних рідких каталізаторів в умовах мікрохвиль. Каталізатори містили іонні рідини 1-бутил-3-метилімідазолгідросульфат, перхлорат N-метилпіролідону та 1,4-диметилпіперазіндігідросульфат. Як реагенти використовували бензил, ацетат амонію, п-аміноазобензол і 4-(диметиламіно)бензальдегід, як розчинник – етанол.

Результати та їх обговорення. У цій роботі 4-(4,5-дифеніл-1-(4-(фенілдіазеніл)феніл)-1H-імідазол-2-іл)-N,N-диметиланілін синтезовано з бензилу, ацетату амонію, п-аміноазобензолу та 4-(диметиламіно)бензальдегіду в присутності мікрохвильового та іонного рідкого каталізаторів. Визначено, що каталізатор 1,4-диметилпіперазіндігідросульфат проводить реакцію в мікрохвильових умовах за короткий час (19 хвилин) з вищим виходом (78,1 %). Структуру синтезованої сполуки досліджено методами ЯМР ¹H, ¹³C та ІЧ-спектроскопії. Теоретичні розрахунки сполуки виконано за допомогою методу теорії функціоналу густини (DFT/B3LYP) з базисним набором 6-31G(d,p). Оптимізовано геометрію структури, задано довжини зв'язків, градусні кути, розраховано такі важливі квантово-хімічні параметри, як орбіталі НОМО, LUMO, реакційна здатність, стабільність, електрофільність,

електронегативність, хімічна м'якість, хімічна твердість. Виявлено, що сполука має високу стабільність ($\Delta E = 2,359$ eV) і високу біологічну активність ($\omega = 5,754$ eV). Вивчено антимікробну активність зразка щодо бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. anthracoides* та грибка *C. albicans*.

Висновки. Каталізатор 1,4-диметилпіперазиндігидросульфат проводить реакцію в умовах мікрохвильового випромінювання за короткий час з вищим виходом. Результати тестування синтезованої сполуки як антимікробного засобу засвідчили помірну та високу її активність проти бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. anthracoides* та грибка *C. albicans*.

Ключові слова: імідазол; синтез; мікрохвилі; іонні рідкі каталізатори; антимікробна активність; теоретичні розрахунки; стабільність

Introduction. Imidazoles play a special role in the chemistry of heterocyclic compounds. Many natural compounds, including important compounds, such as purine, histamine, histidine, nucleic acids, have the imidazole ring. Currently, some medicinal substances contain, for example, etonitazene with the analgesic effect, omeprazole used against ulcers, pantoprazole, metronidazole used against bacteria, nitroso-imidazole, azathioprine used in the treatment of rheumatism, dacarbazine for Hodgkin's disease, and other drugs have the imidazole ring [1]. Since imidazoles have a high biological activity, imidazole-based medicinal chemistry is developing day by day. Imidazoles are part of drugs used in the treatment of cancer, diabetes, AIDS, malaria, etc. [2-7].

Imidazoles are used as ionic liquids in green chemistry and organometallic catalysis [8], as ligands in coordination chemistry [9], and as luminescent substances in the field of LED industry and defectoscopy [10-12].

Imidazoles are also widely used in the oil industry. Currently, imidazole compounds are used to solve corrosion problems in the world. As is well known, sulfate-reducing bacteria that infect pipes during oil extraction cause microbiological corrosion in pipes. This leads to destruction of tons of metals, pollution of seas and oceans, destruction of flora and fauna. Here, the application of inhibitory bactericides can contribute to environmental protection, as well as increasing economic efficiency [13-15].

The presence of such a wide range of applications increases the interest in the imidazole synthesis. Due to harsh reaction conditions, low yield and long reaction time, the efficient synthesis of imidazoles has always been of interest, and the search for more convenient synthesis routes is still relevant [16-18].

Nowadays, one of the methods successfully applied in the synthesis of imidazoles is synthesis reactions in the presence of ionic-liquid catalysts. A short reaction time, low temperature, one-stage reaction, high productivity, easy separation of catalysts from reaction products as a solution in water, and the possibility of reuse of catalysts can be mentioned as the causes for the efficiency of the reactions taking place with the participation of ionic liquid catalysts [19-21].

Microwave conditions are noted for their extreme environmental cleanliness. On the other hand, although the reaction time under microwave conditions is shorter than that of catalytic reactions, the yield of reaction products is less than that of catalytic reactions. Recently, "microwave and catalyst" synergism has been successfully applied in order to increase economic and environmental efficiency in the synthesis of chemical substances [21].

Quantum-chemical calculations, which are relevant in modern times, allow predicting a number of properties of chemical substances in advance without carrying out practical experiments. These properties include the spatial structure of matter, stability, electrophile index, electronegativity, electron lattice, etc. In addition, using calculation programs, it is possible to calculate bond lengths, bond angle degrees, bond twist rates, atomic charges, etc., in the optimized structure of the substance [22-24].

The **aim** of our work is to synthesize 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline, as well as make theoretical calculations of its structure and study its antimicrobial properties.

Materials and methods. Reagents and solvents were purchased from Aldrich. ^1H -, ^{13}C -, NMR spectra of the compound synthesized were recorded on a BRUKER-Fourier (300 MHz) spectrometer at 200 °C, tetramethylsilane (TMS) was used as an internal standard, and DMSO was used as a solvent. The IR spectrum was taken in the wavelength range of 600-4000 cm^{-1} on a "LUMOS FT-IR Microscope" spectrometer (BRUKER Company of Germany). The elemental analysis was performed on a "TRUSPEC MICRO" device manufactured by the "LECO" company. The melting point was measured on a DSK-Q-20 apparatus.

Results and discussion. The imidazole compound was synthesized under 4 different conditions – under microwave conditions without the presence of a catalyst and in the presence of 3 different ionic liquid catalysts. 3 mmol of benzyl, 3 mmol of 4-(dimethylamino) benzaldehyde, 3 mmol of p-aminoazobenzene, 3 mmol of ammonium acetate, 20 ml of ethanol were taken as reagents. The reaction mixture was irradiated in a 300W microwave oven at the boiling temperature of ethanol (Figure 1). The reaction proceeds according to the scheme shown below.

The synthesis reactions were carried out according to the optimization in the amount of 10 % (mol) of catalysts and at the boiling temperature of ethanol (78 °C). The progress of the reaction was monitored by means of thin layer chromatography (TLC). After the reaction was completed, the mixture was poured into ice water, the solid mass was separated by filtration, and recrystallized in ethanol.

As can be seen from Table 1, the 1,4-DMPDHS catalyst is more effective than other ionic liquid catalysts.

The empirical formula of the substance synthesized is $\text{C}_{35}\text{H}_{29}\text{N}_5$, $\text{Mr} = 519.09$. Concerning the melting point, no melting is observed up to 300 °C (evaporation, volatilization may occur). ^1H -NMR (DMSO-d_6 , δ , ppm): 3.10 (s., 6H, CH_3), 6.84 (d.d., 4H, $J = 6.9, 1.5$ Hz), 7.39

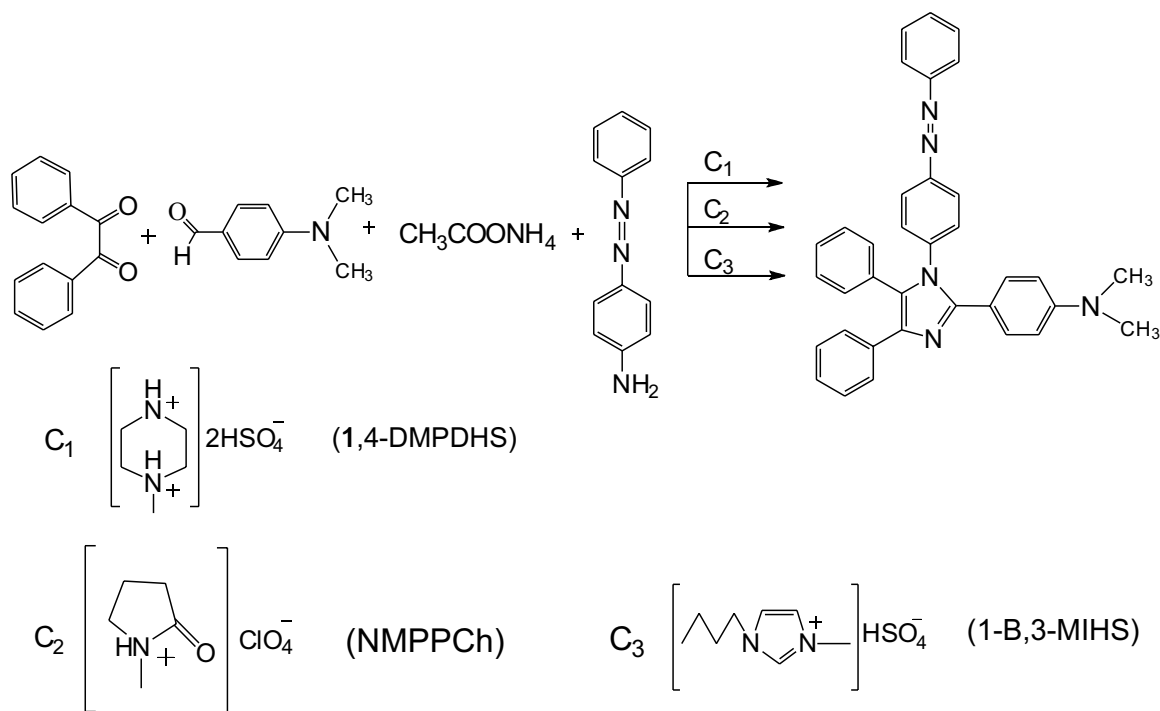


Fig. 1. The synthesis of 2-(4-chlorophenyl)-4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazole

Table 1

The comparison of catalysts and the microwave synthesis in terms of yield and reaction time

Conditions	Reaction time, min	Yield (%)
Microwave	28	56.8
1,4-DMPDHS & Microwave	19	78.1
NMPPCh & Microwave	23	70.7
1-B,3-MIHS & Microwave	22	73.5

(d.d., 4H, J = 6.6, 2.1 Hz), 7.57-7.60 (m., 3H), 7.86 (d.d., 4H, J = 6.9, 2.1 Hz), 7.93 (d.d., 4H, J = 6.6, 1.8 Hz), 7.97 (d.d., 4H, J = 6.9, 2.1 Hz). ^{13}C NMR: 42.16 (CH₃), 118.05, 118.69, 120.07, 122.06, 122.68, 124.01, 124.54, 125.34, 126.12, 128.14, 129.29, 129.65, 131.22 1.98, 132.64, 133.61 (C-Ar), 136.02, 151.09, 151.67, 152.84 (C-N). IR (cm⁻¹): ν -1662 (C=N), δ -636, 685, 717, 766, 795, 844, 874 (C-H), ν -1597(C-C), ν -1571(N=N), ν -1313 (C-N).

The antimicrobial activity of the sample synthesized was studied by the disk diffusion method. *Staphylococcus aureus* (gold staphylococci), gram-negative bacteria *Escherichia coli* (intestinal bacilli), *Pseudomonas aeruginosa* (blue-green pus bacillus) with a high natural resistance to antibiotics, *Klebsiella pneumoniae*

(capsulated), *Bacillus anthracoides* (spored), *Candida albicans* laboratory strains considering one of the causative agents of opportunistic mycosis were used. These bacteria were cultured on the meat-peptone agar, and candida were cultured on the Sabouraud's medium. The study used one-day test cultures, 500 million suspensions of microbial cells in 1 ml of saline solution. Each suspension of microorganisms prepared by this method was evenly distributed over the surface of the corresponding nutrient medium using buffers. After that, the sample (as well as its 1, 2, and 4-fold dilutions) was soaked on sterile paper discs with a diameter of 6 mm and placed on the nutrient media inoculated with microbes. After incubating for one day at 37 °C, the results were recorded for the development of microorganisms around the disks impregnated with the substance. The diameter of the sterile zones indicated the degree of sensitivity of the microorganism to the substance.

As can be seen from Table 2, the sample showed a moderate and high antimicrobial activity against bacteria and fungi. According to the results obtained, the test sample inhibited fungi more effectively than bacteria. The sample showed a relatively weak activity (21.4 mm in 50 $\mu\text{g/ml}$) against *P. aeruginosa*. As a result, the test sample sufficiently inhibited (32.3 mm in 100 $\mu\text{g/ml}$) the culture of *C. albicans*.

Table 2

The study of the effect of chemical substances on microorganisms by the disk-diffusion method
(The numbers are the diameter of the area where the microbe does not develop and are shown in mm)

Conc.	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. anthracoides</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>
50 $\mu\text{g/ml}$	27.1	28.6	21.4	22.3	26.3	31.5
100 $\mu\text{g/ml}$	29.6	30.5	23.2	23.3	28.2	32.3

Note: less than 15 mm is considered as a weak effect, 15-25 mm as a medium effect, over 25 mm as a high effect.

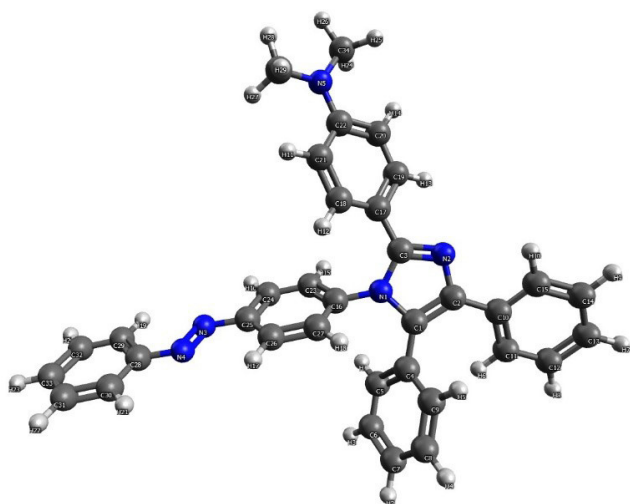


Fig. 2. The optimized structure of 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline

The theoretical calculations of the compound were performed using well-known DFT (Density functional theory) method, the geometry optimization was carried out on the basis of 6-31G(d,p) basic sets and the B3LYP level of theory. The ORCA-4.2.1 computational package was used for calculations [25]. Such important parameters as E_{HOMO} , E_{LUMO} , chemical hardness, chemical softness, electronegativity, chemical potential, electrophilicity index, ionization potential and electron affinity were calculated. The optimized structure is shown in Fig. 2.

The length of the C22-N5 bond in the optimized structure is 1.333 Å. C atoms (CH_3) are bonded to N5 atom with a bond angle of 119.7° , and the bond length is 1.445 Å. Phenyl rings bonded to the imidazole ring are not in the same plane. More rotation (C1-C2-C4-C9 - 56.7°) is observed in the phenyl ring bonded to C1.

The HOMO and LUMO orbitals of the molecule are given in Fig. 3.

As can be seen from Fig. 3, the LUMO orbitals are mainly delocalized on the phenyldiazenylphenyl fragment, including C3 and C1 carbons of the imidazole ring and look like C-H sp^2 -s orbitals. The HOMO orbitals are delocalized over the imidazole ring, the aromatic rings are bonded to the imidazole ring, and CH_3 group. The HOMO orbitals appear mainly as C-C sp^2 - sp^2 and C-H sp^3 -s orbitals.

The quantum-chemical parameters of the molecule were calculated using the appropriate equations based on literature sources [21, 26, 27]. They are listed in Table 3. The energy gap is the difference between the HOMO and LUMO energies ($\Delta E = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$) and is the main quantity expressing the chemical stability of the molecule. Thus, a higher value of ΔE means that the molecule is more stable. It can be noted that the compound studied ($\Delta E = 2.359 \text{ eV}$) is quite stable chemically. The ionization potential and electron affinity are equal to the opposite value of E_{HOMO} and E_{LUMO} energies, respectively ($I = -E_{\text{HOMO}}$, $A = -E_{\text{LUMO}}$). The high value of the ionization potential (4.864 eV) is related to the stability of the molecule.

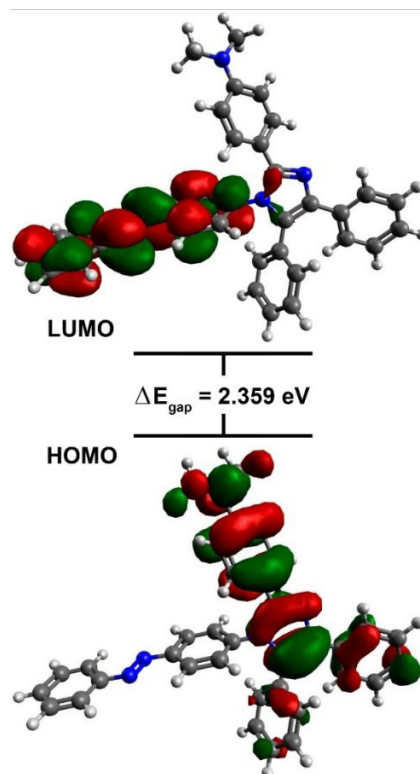


Fig. 3. The HOMO and LUMO orbitals of 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline

Chemical hardness ($\eta = \frac{|I-A|}{2}$) is half of the difference between the values of the ionization potential and electron affinity. Chemical softness is inversely proportional to chemical hardness ($\sigma = \frac{1}{\eta}$). Low chemical hardness and high chemical softness are related to a high reactivity and binding efficiency of the molecule. Considering that these parameters are opposite in the compound studied ($\eta = 1.180$, $\sigma = 0.848 \text{ eV}$), it can be noted that the compound has a weak reactivity. Electronegativity is half of the sum of the ionization potential and electron affinity values ($\lambda = \frac{|I+A|}{2}$) and indicates the ability of the molecule to attract electrons and its reactivity. Another

Table 3

The value of E_{HOMO} , E_{LUMO} , ΔE , chemical hardness (η), chemical softness (σ), electronegativity (λ), chemical potential (μ), electrophilicity index (ω), ionization potential (I) and electron affinity (A) of the imidazole synthesized

Parameters	Value
E_{HOMO} (eV)	-4.864
E_{LUMO} (eV)	-2.505
ΔE (eV)	2.359
Chemical hardness (η), (eV)	1.180
Chemical softness (σ), (eV)	0.848
Electronegativity (λ), (eV)	3.685
Chemical potential (μ), (eV)	-3.685
Electrophilicity index (ω), (eV)	5.754
Ionization potential (I), (eV)	4.864
Electron affinity (A), (eV)	2.505

important parameter is the electrophilicity index, which is calculated using the equation $\omega = \frac{\mu^2}{2\pi}$. The electrophilicity index is used to predict the biological activity of a molecule. Weak electrophiles have an electrophilic index less than 0.8 eV, medium electrophiles have an electrophilic index between 0.8 and 1.5 eV, while strong electrophiles have an electrophilic index more than 1.5 eV. Considering that the electrophilicity index of the molecule is 5.754 eV, it can be noted that it has a high biological activity. In a known source [21], quantum-chemical parameters of a similar imidazole were calculated, the electrophilicity index of 5.174 eV was recorded. It indicates that it has a slightly lower biological activity than the imidazole studied. Summarizing the theoretical calculations, it can be noted that the imidazole studied has a weak reactivity, high stability and high biological activity [28-30].

Conclusions and prospects for further research. In this work, 4-(4,5-diphenyl-1-(4-(phenyldiazenyl)phenyl)-

1H-imidazol-2-yl)-N,N-dimethylaniline has been synthesized from benzyl, ammonium acetate, p-aminoazobenzene and 4-(dimethylamino)benzaldehyde in the presence of microwave and ionic liquid catalysts. It has been determined that 1,4-dimethylpiperazinedihydrosulfate catalyst reacts under microwave conditions in a shorter time (19 min) with a higher yield (78.1 %). The compound has been tested as an antimicrobial agent against bacteria of *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. anthracoides* and *C. albicans* fungus, showing moderate and higher activity. The theoretical calculations of the molecule have been performed; quantum chemical parameters are given. According to the theoretical calculations, the compound has a high chemical stability ($\Delta E = 2.359$ eV) and a high biological activity ($\omega = 5.754$ eV).

Conflict of interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Siwach A., Verma P. K. Synthesis and therapeutic potential of imidazole containing compounds. *BMC Chemistry*. 2021. Vol. 15, № 1. DOI: 10.1186/s13065-020-00730-1.
2. Imidazoles as Potential Anticancer Agents: An Update on Recent Studies / P. Sharma et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 14. P. 4213. DOI: 10.3390/molecules26144213.
3. Abdelhamid A. A., Salah H. A., Marzouk A. A. Synthesis of imidazole derivatives: Ester and hydrazide compounds with antioxidant activity using ionic liquid as an efficient catalyst. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2019. Vol. 57, № 2. P. 676-685. DOI: 10.1002/jhet.3808.
4. Refaat H. M. Synthesis and anticancer activity of some Nevel 2-substituted benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 45, № 7. P. 2949-2956. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.03.022.
5. Various Synthesis and Biological Evaluation of Some Tri-Tetra-Substituted Imidazoles Derivatives: A Review / A. Hamdi et al. *Heliyon*. 2024. Vol. 10, № 10. P. e31253. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e31253.
6. Mammadov A. M. Synthesis of 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles in the presence of 1,4-dimethylpiperaziniumdihydrosulfate catalyst and their antimicrobial activity. *Processes of Petrochemistry and Oil Refining*. 2019. Vol. 20, № 3. P. 256-260.
7. Synthesis and biological evaluation of novel imidazole-containing macrocycles / P. Nshimyumukiza et al. *Tetrahedron*. 2010. Vol. 66, № 25. P. 4515-4520. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2010.04.070>.
8. Ionic liquid [EMIM]OAc under ultrasonic irradiation towards the first synthesis of trisubstituted imidazoles / H. Zang et al. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2010. Vol. 17, № 5. P. 749-751. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2010.01.015.
9. Novel synthesis of 2,4-bis(2-pyridyl)-5-(pyridyl)imidazoles and formation of N-(3-(pyridyl)imidazo[1,5-a]pyridine)picolinamides: nitrogen-rich ligands / V. K. Fulwa et al. *Tetrahedron Letters*. 2009. Vol. 50, № 46. P. 6264-6267. DOI: 10.1016/j.tetlet.2009.09.002.
10. Kumar D., Thomas K. R. J. Optical properties of pyrene and anthracene containing imidazoles: Experimental and theoretical investigations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2011. Vol. 218, № 1. P. 162-173. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2010.12.018.
11. Fluorescence spectral studies of some imidazole derivatives / J. Jayabharathi et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2012. Vol. 90. P. 125-130. DOI: 10.1016/j.saa.2012.01.030.
12. Synthesis of Tunable Fluorescent Imidazole-Fused Heterocycle Dimers / Q. Zheng et al. *Organic Letters*. 2022. Vol. 24, № 28. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.2c01642>.
13. Sathiyarayanan S., Marikkannu C., Palaniswamy N. Corrosion inhibition effect of tetramines for mild steel in 1M HCl. *Applied Surface Science*. 2005. Vol. 241, № 3-4. P. 477-484. DOI: 10.1016/j.apsusc.2004.07.050.
14. Imidazole derivative as novel effective inhibitor of mild steel corrosion in aqueous sulphuric acid / W. O. Nnenna et al. *American Journal of Physical Chemistry*. 2015. Vol. 4, № 1. P. 1-9.
15. Mammadov A. M. Synthesis of Imidazole-Based Complexes and Investigation Of Their Bactericidal Properties Against *Srb*. *Processes of Petrochemistry and oil Refining*. 2021. Vol. 22, № 4. P. 537-545.
16. Üç və dördəvəzli imidazolların sintezi / A. M. Məmmədov та ін. *Gənc tədqiqatçı*. 2020. Vol. 4, № 1. C. 27-37.
17. Synthesis of new Imidazole Derivatives as effective Antimicrobial Agents / B. K. Verma et al. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 2017. Vol. 5, № 01. P. 01-09. DOI: 10.30750/ijpbr.5.1.1.
18. Synthesis of tetrasubstituted imidazoles containing indole and their antiurease and antioxidant activities / S. Naureen et al. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2017. Vol. 62, № 3. P. 3583-3587. DOI: 10.4067/s0717-97072017000303583.
19. Synthesis and study of diphenyl and 4-(phenyldiazenyl)phenyl based tetrasubstituted imidazoles in the presence of ionic liquid catalysts / N. Orujova et al. *PPOR*. 2023. Vol. 4, № 2. P. 235-245. DOI: 10.36719/1726-4685/94/235-245.
20. Ionic Liquid Solvation versus Catalysis: Computational Insight from a Multisubstituted Imidazole Synthesis in [Et₂ NH₂] [HSO₄] / Y. Abdullayev et al. *ChemistryOpen*. 2016. Vol. 5, № 5. P. 460-469. DOI: 10.1002/open.201600066.
21. Synthesis and theoretical calculations of 4[4,5-diphenyl-1-(4(phenyldiazenyl)phenyl)-1h-imidazol-2-yl]-phenol / V. M. Abbasov et al. *Processes of Petrochemistry and Oil Refining*. 2024. № 01. P. 89. DOI: 10.62972/1726-4685.2024.1.89.

22. A novel nano-sized binuclear nickel(ii) Schiff base complex as a precursor for NiO nanoparticles: synthesis, characterization, DFT study and antibacterial activity / Z. Parsaei et al. *New Journal of Chemistry*. 2016. Vol. 40, № 12. P. 10569-10583. DOI: 10.1039/c6nj02642g.
23. Messaoudi B., Benhadria N., Attar T. Theoretical insights on the relationship between detection limit and complex stability of oxine ligand. *Turkish Computational and Theoretical Chemistry*. 2023. Vol. 8, № 1. P. 65-79. DOI: 10.33435/tcandtc.1252038.
24. Quantum computational investigations and molecular docking studies on amentoflavone / M. M. Marinho et al. *Heliyon*. 2021. Vol. 7, № 1. P. e06079. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e06079.
25. Neese F. The ORCA program system. *WIREs Computational Molecular Science*. 2011. Vol. 2, № 1. P. 73-78. DOI: 10.1002/wcms.81.
26. Computational assessment of the reactivity and pharmaceutical potential of Novel Triazole Derivatives: An approach combining DFT calculations, molecular dynamics simulations, and molecular docking / K. Tabti et al. *Arabian Journal of Chemistry*. 2024. Vol. 17, № 1. P. 105376. DOI: 10.1016/j.arabjc.2023.105376.
27. Domingo L., Ríos-Gutiérrez M., Pérez P. Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity. *Molecules*. 2016. Vol. 21, № 6. P. 748. DOI: 10.3390/molecules21060748.
28. Ríos-Gutiérrez M., Sousa A. S., Domingo L. R. Electrophilicity and Nucleophilicity Scales at Different DFT Computational Levels. *Journal of Physical Organic Chemistry*. 2023. Vol. 36. P. e4503. DOI: 10.1002/poc.4503.
29. Synthesis of complexes of oleic acid with alkylamines and theoretical study of their structures. *PPOR*. 2023. Vol. 24, № 4. P. 831-842. DOI: 10.36719/1726-4685/96/831-842.
30. Monir U. Thermodynamic, HOMO-LUMO, MEP and ADMET Studies of Metronidazole and its Modified Derivatives Based on DFT. *Op Acc J Bio Eng Bio Sci*. 2018. Vol. 3, № 1. P. 1-9.

REFERENCES

1. Siwach, A., Verma, P. K. (2021). Synthesis and therapeutic potential of imidazole containing compounds. *BMC Chemistry*, 15(1). doi:10.1186/s13065-020-00730-1.
2. Sharma, P., LaRosa, C., Antwi, J., Govindarajan, R., Werbovetz, K. A. (2021). Imidazoles as Potential Anticancer Agents: An Update on Recent Studies. *Molecules*, 26(14), 4213. doi:10.3390/molecules26144213.
3. Abdelhamid, A. A., Salah, H. A., Marzouk, A. A. (2019). Synthesis of imidazole derivatives: Ester and hydrazide compounds with antioxidant activity using ionic liquid as an efficient catalyst. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(2), 676-685. doi:10.1002/jhet.3808.
4. Refaat, H. M. (2010). Synthesis and anticancer activity of some novel 2-substituted benzimidazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(7), 2949-2956. doi:10.1016/j.ejmech.2010.03.022.
5. Hamdi, A., Daoudi, W., Aaddouz, M., Azzouzi, M., Amhamdi, H., Elyoussfi, A. et al. (2024). Various Synthesis and Biological Evaluation of Some Tri-Tetra-Substituted Imidazoles Derivatives: A Review. *Heliyon*, 10(10), e31253. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e31253.
6. Mammadov, A. M. (2019). Synthesis of 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles in the presence of 1,4-dimethylpiperaziniumdihydrosulfate catalyst and their antimicrobial activity. *Processes of Petrochemistry and Oil Refining*, 20(3), 256-260.
7. Nshimyumukiza, P., Van Den Berge, E., Delest, B., Mijatovic, T., Kiss, R., Marchand-Brynaert, J., Robiette, R. (2010). Synthesis and biological evaluation of novel imidazole-containing macrocycles. *Tetrahedron*, 66(25), 4515-4520. doi:10.1016/j.tet.2010.04.070.
8. Zang, H., Su, Q., Mo, Y., Cheng, B.-W., Jun, S. (2010). Ionic liquid [EMIM]OAc under ultrasonic irradiation towards the first synthesis of trisubstituted imidazoles. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(5), 749-751. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.01.015.
9. Fulwa, V. K., Sahu, R., Jena, H. S., Manivannan, V. (2009). Novel synthesis of 2,4-bis(2-pyridyl)-5-(pyridyl)imidazoles and formation of N-(3-(pyridyl)imidazo[1,5-a]pyridine)picolinamides: nitrogen-rich ligands. *Tetrahedron Letters*, 50(46), 6264-6267. doi:10.1016/j.tetlet.2009.09.002.
10. Kumar, D., Thomas, K. R. J. (2011). Optical properties of pyrene and anthracene containing imidazoles: Experimental and theoretical investigations. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 218(1), 162-173. doi:10.1016/j.jphotochem.2010.12.018.
11. Jayabharathi, J., Thanikachalam, V., Srinivasan, N., Venkatesh Perumal, M. (2012). Fluorescence spectral studies of some imidazole derivatives. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 125-130. doi:10.1016/j.saa.2012.01.030.
12. Zheng, Q., Li, X., Kurpiewska, K., Dömling, A. (2022). Synthesis of Tunable Fluorescent Imidazole-Fused Heterocycle Dimers. *Organic Letters*, 24, 28. doi:10.1021/acs.orglett.2c01642.
13. Sathiyarayanan, S., Marikkannu, C., Palaniswamy, N. (2005). Corrosion inhibition effect of tetramines for mild steel in 1M HCl. *Applied Surface Science*, 241(3-4), 477-484. doi:10.1016/j.apsusc.2004.07.050.
14. Nnenna, W. O., Jonathan, O. B., Ekemini, B. I., Abiodun, O. E. (2015). Imidazole derivative as novel effective inhibitor of mild steel corrosion in aqueous sulphuric acid. *American Journal of Physical Chemistry*, 4(1), 1-9.
15. Mammadov, A. M. (2021). Synthesis of imidazole-based complexes and investigation of their bactericidal properties against *Srb*. *Processes of Petrochemistry and oil Refining*, 22(4), 537-545.
16. Məmmədov, A. M., Cəfərova, R. Ə., Əliyev, B. M., Məmmədova, R. R., Orucova, N. S. (2020). Üç və dördəvəzli imidazolların sintezi. *Gənc tədqiqatçı*, 4(1), 27-37.
17. Verma, B. K., Kapoor, S., Kumar, U., Pandey, S., Arya, P. (2017). Synthesis of new Imidazole Derivatives as effective Antimicrobial Agents. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 5(01), 01-09. doi:10.30750/ijpbr.5.1.1.
18. Naureen, S., Ijaz, F., Munawar, M. A., Asif, N., Chaudhry, F., Ashraf, M., Khan, M. A. (2017). Synthesis of tetrasubstituted imidazoles containing indole and their antiurease and antioxidant activities. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 62(3), 3583-3587. doi:10.4067/s0717-97072017000303583.
19. Orujova, N., Mammadov, A., Jafarova, R., Yolchuyeva, U., Ahmadbayova, S. (2023). Synthesis and study of diphenyl and 4-(phenyldiazenyl)phenyl based tetrasubstituted imidazoles in the presence of ionic liquid catalysts. *PPOR*, 4(2), 235-245. doi:10.36719/1726-4685/94/235-245.
20. Abdullayev, Y., Abbasov, V., Ducati, L. C., Talybov, A., Autschbach, J. (2016). Ionic Liquid Solvation versus Catalysis: Computational Insight from a Multisubstituted Imidazole Synthesis in [Et₂NH₂] [HSO₄]. *ChemistryOpen*, 5(5), 460-469. doi: 10.1002/open.201600066.

21. Abbasov, V. M., Orujova, N. S., Jafarova, R. A., Mammadov, A. M., Ahmadbayova, S. F. (2024). Synthesis and theoretical calculations of 4[4,5-diphenyl-1-(4(phenyldiazenyl)phenyl)-1h-imidazol-2-yl]-phenol. *Processes of Petrochemistry and Oil Refining*, 1, 89. doi:10.62972/1726-4685.2024.1.89.
22. Parsaee, Z., Mohammadi, K., Ghahramaninezhad, M., Hosseinzadeh, B. (2016). A novel nano-sized binuclear nickel(ii) Schiff base complex as a precursor for NiO nanoparticles: synthesis, characterization, DFT study and antibacterial activity. *New Journal of Chemistry*, 40(12), 10569-10583. doi:10.1039/c6nj02642g.
23. Messaoudi, B., Benhadria, N., Attar, T. (2023). Theoretical insights on the relationship between detection limit and complex stability of oxine ligand. *Turkish Computational and Theoretical Chemistry*, 8(1), 65-79. doi:10.33435/tcandtc.1252038.
24. Marinho, M. M., Almeida-Neto, F. W. Q., Marinho, E. M., da Silva, L. P., Menezes, R. R. P. B., dos Santos, R. P. Et al. (2021). Quantum computational investigations and molecular docking studies on amentoflavone. *Heliyon*, 7(1), e06079. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06079.
25. Neese, F. (2011). The ORCA program system. *WIREs Computational Molecular Science*, 2(1), 73-78. doi:10.1002/wcms.81
26. Tabti, K., Sbati, A., Maghat, H., Lakhli, T., Bouachrine, M. (2023). Computational assessment of the reactivity and pharmaceutical potential of Novel Triazole Derivatives: An approach combining DFT calculations, molecular dynamics simulations, and molecular docking. *Arabian Journal of Chemistry*, 17, 1, P. 105376. doi:10.1016/j.arabjc.2023.105376.
27. Domingo, L., Ríos-Gutiérrez, M., Pérez, P. (2016). Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity. *Molecules*, 21(6), 748. doi:10.3390/molecules21060748.
28. Ríos-Gutiérrez, M., Sousa, A. S., Domingo, L. R. (2023). Electrophilicity and Nucleophilicity Scales at Different DFT Computational Levels. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 36. e4503. doi:10.1002/poc.4503.
29. Synthesis of complexes of oleic acid with alkylamines and theoretical study of their structures. (2023). *PPOR*, 24, 4. 831-842. <https://doi.org/10.36719/1726-4685/96/831-842>.
30. Monir, U. (2018). Thermodynamic, HOMO-LUMO, MEP and ADMET Studies of Metronidazole and its Modified Derivatives Based on DFT. *Op Acc J Bio Eng Bio Sci*, 3(1), 1-9.

Information about authors:

Abbasov Vagif, Doctor of Chemistry (Dr. habil.), academician, general director of the Institute of Petrochemical Processes named after academician Y.H. Mammadaliyev of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku Azerbaijan. E-mail: vagif_abbasov@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9270-6624>

Orujova Nargiz, PhD student, senior researcher of the Institute of Petrochemical Processes named after academician Y. H. Mammadaliyev, Baku Azerbaijan. E-mail: ayazmammadov@nkpi.az. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-4743-8734>

Mammadov Ayaz, Candidate of Chemistry (PhD), head of the Department of Information and Telecommunication, Institute of Petrochemical Processes named after academician Y. H. Mammadaliyev, Baku Azerbaijan. E-mail: ayazmammadov@nkpi.az. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-4743-8734>

Jafarova Rana, Doctor of Chemistry (Dr. habil.), professor, head of the Department of Physical and Physicochemical Studies, Institute of Petrochemical Processes named after academician Y. H. Mammadaliyev, Baku Azerbaijan. E-mail: rena.japharova@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1331-4092>

Ahmadbayova Saida, Candidate of Chemistry (PhD), senior researcher of the Institute of Petrochemical Processes named after academician Y. H. Mammadaliyev, Baku Azerbaijan. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1672-6394>. E-mail: saida.ahmadbayova@gmail.com

Muradova Sevd, Candidate of Medicine (PhD), senior lecturer, Azerbaijan Medical University, Baku Azerbaijan. E-mail: sevdamuradova3@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2819-6146>

Akhmedov Elshan Yunisovich, PhD, associated professor of the General Chemistry Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6727-8259>. E-mail: super.dan.96@ukr.net

Відомості про авторів:

Вагіф Аббасов, доктор хімічних наук, академік, генеральний директор, Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Й. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки. E-mail: vagif_abbasov@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9270-6624>

Наргіз Оруджова, аспірантка, старший науковий співробітник, Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Й. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки. E-mail: vagif_abbasov@hotmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9270-6624>

Аяз Мамедов, кандидат хімічних наук, завідувач кафедри інформації та телекомунікацій, Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Й. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки. E-mail: ayazmammadov@nkpi.az. ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-4743-8734>

Рана Джафарова, доктор хімічних наук, професор, завідувачка кафедри фізичних і фізико-хімічних досліджень, Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Й. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки. E-mail: rena.japharova@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-1331-4092>

Саїда Ахмадбайова, кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, Інститут нафтохімічних процесів імені академіка Й. Г. Мамедалієва Міністерства науки і освіти Азербайджанської Республіки. E-mail: saida.ahmadbayova@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1672-6394>

Севда Мурадова, кандидат медичних наук, старший викладач, Азербайджанський медичний університет. E-mail: sevdamuradova3@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2819-6146>

Елшан Ахмедов, кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри загальної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: super.dan.96@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6727-8259>

Надійшла до редакції 09.07.2024 р.

О. С. Калюжная¹, Н. В. Хохленкова¹, М. В. Паненко²

¹ Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

² Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Аналіз технологій виробництва рекомбінантного інсуліну

Метою дослідження є аналіз сучасних тенденцій у виробництві інсулінів та систем експресії, використовуваних для отримання рекомбінантних білків.

Матеріали та методи. Визначеної мети досягали, використовуючи методи контент-аналізу, порівняльного, логічного, аналітичного та узагальнення інформації. Матеріалами дослідження були публікації в наукових періодичних виданнях, офіційні сайти компаній-виробників.

Результати та їх обговорення. З'ясовано, що для комерційного виробництва рекомбінантних людських інсулінів традиційно використовують такі системи експресії: бактеріальну (*Escherichia coli*) та дріжджову (*Saccharomyces cerevisiae*). Але для задоволення світової потреби в інсуліні необхідна розробка нових ефективних систем експресії. Тому сьогодні досліджують використання інших еукаріотних систем експресії інсуліну, що були б придатні для великомасштабного виробництва. Серед таких систем перспективними для впровадження у виробництво інсулінів є трансгенні рослини, які характеризуються відсутністю потенційних людських патогенів та наявністю механізмів посттрансляційної модифікації білка, схожих на людські. Наразі успішними є дослідження з використанням рослин *Arabidopsis thaliana*, тютюну, салату та полуниці. Також перспективними вважають стовбурові клітини – ембріональні, мезенхімальні та індуковані плюрипотентні. Схарактеризовано методи, застосовувані у великомасштабному виробництві рекомбінантного інсуліну, зокрема на основі синтезу проінсуліну та дволанцюговий метод. Складено технологічні схеми обох технологій, наведено переваги та недоліки кожної.

Висновки. Аналіз даних наукової літератури засвідчив, що основними методами виробництва препаратів інсуліну з 1980-х років залишаються проінсуліновий і дволанцюговий, засновані на технологіях рекомбінантної ДНК. Проінсуліновий метод вважають більш ефективним та рентабельним, якщо порівнювати з дволанцюговим, бо ця технологія складається з роботи з одним рекомбінантним штамом. Вибір між цими двома методами залежить від конкретних потреб виробника: для одних випадків раціональним є швидкий метод із синтезом проінсуліну, для інших – більш точний та контрольований дволанцюговий метод. Системами експресії, що їх використовують у сучасних технологіях великомасштабних виробництв, залишаються бактеріальна (*Escherichia coli*) та дріжджова (*Saccharomyces cerevisiae*). Але за використання *E. coli* попередники інсуліну виробляються в тільцях вкращення, а повністю функціональні поліпептиди отримують шляхом стадій солюбілізації та рефолдингу, система ж на основі дріжджів дає розчинний попередник інсуліну, який секретується в культуральну рідину, проте потребує попередньої гуманізації через ризики імунної відповіді в людини. Отже, сучасні технології не можуть задовольнити дедалі більший попит на доступний інсулін через обмеження виробничих потужностей і високу вартість виробництва, тому тривають дослідження з пошуку нових ефективних систем експресії, як-от клітини рослин та ссавців, зокрема *Arabidopsis thaliana*, тютюну, салату, полуниці, стовбурових клітин.

Ключові слова: інсулін; технології рекомбінантних ДНК; система експресії

O. S. Kaliuzhnaia¹, N. V. Khokhlenkova¹, M. V. Panenko²

¹ National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

² Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

The analysis of recombinant insulin production technologies

Aim. To analyze current trends in insulin production and expression systems used to obtain recombinant proteins.

Materials and methods. The specified goal was achieved using the methods of content analysis, comparative, logical, analytical and generalization of information. The research materials were publications in scientific periodicals, official websites of manufacturing companies.

Results. It has been found that the following expression systems are traditionally used for the commercial production of recombinant human insulins: bacterial – *Escherichia coli*, and yeast – *Saccharomyces cerevisiae*. But to meet the global need for insulin, it is necessary to develop new effective expression systems. Therefore, the use of other eukaryotic insulin expression systems that would be suitable for large-scale production is currently being studied. Among such systems, transgenic plants, which are characterized by the absence of potential human pathogens and the presence of post-translational protein modification mechanisms similar to human ones, are promising for introduction into insulin production. Currently, studies using *Arabidopsis thaliana*, tobacco, lettuce and strawberry plants are successful. Stem cells – embryonic, mesenchymal and induced pluripotent are also considered promising. The methods used in the large-scale production of recombinant insulin based on the synthesis of proinsulin and the two-chain method have been characterized. The technological flowcharts of both technologies have been drawn up, the advantages and disadvantages of each are given.

Conclusions. The analysis of data from the scientific literature has shown that the main methods of producing insulin preparations since the 1980s remain pro-insulin and two-chain methods, which are based on recombinant DNA technologies. The pro-insulin method is considered more efficient and cost-effective compared to the two-chain method since this technology consists of working with a single recombinant strain. The choice between these two methods depends on the specific needs of the manufacturer: for some cases a fast method with proinsulin synthesis

is rational, for others – a more accurate and controlled two-chain method. The bacteria – *Escherichia coli* and yeast – *Saccharomyces cerevisiae* remain the expression systems used in the existing large-scale production technologies. But using *E. coli*, insulin precursors are produced in inclusion bodies, and fully functional polypeptides are obtained by solubilization and refolding steps. The yeast-based system yields a soluble insulin precursor that is secreted into the culture fluid, but requires prior humanization due to the risks of an immune response in humans. Thus, current production technologies cannot meet the growing demand for available insulin due to limited production capacity and high production costs, so research is being conducted to find new efficient expression systems, such as plant and mammalian cells, including *Arabidopsis thaliana*, tobacco, lettuce, strawberry, stem cells.

Keywords: insulin; recombinant DNA technology; expression system

Вступ. За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), діабет є глобальною епідемією. Для прискорення дій щодо боротьби з діабетом у всьому світі у квітні 2021 р. ВООЗ запустила Глобальний діабетичний договір [1]. Понад 420 млн людей (6 % населення світу) жили з діабетом до появи COVID-19, і прогнозують, що це число зростатиме до 643 млн до 2030 р. та до 783 млн до 2045 р. [2]. Зростання кількості хворих на цукровий діабет у всьому світі через збільшення впливу малорухомого способу життя своєю чергою призводить до збільшення потреби в інсуліні. Крім того, існує незадоволений попит на доступний інсулін, особливо в країнах із низьким і середнім рівнем доходу. Багато людей із діабетом 1 типу, життя яких повністю залежить від інсуліну, не мають доступу до інсуліну. З-поміж 60 млн людей із діабетом 2 типу, які потребують лікування інсуліном, 1 з 2 не отримує інсулін через його ціну [1, 3].

2018 року світовий ринок людського інсуліну становив 21,26 млрд доларів США, 2022 року – 18,73 млрд доларів США [4]. Але зниження попиту на інсулін за ці роки відбулось не через зниження потреби в ньому, а через зниження показників діагностики під час пандемії COVID-19. За прогнозами, ринок виросте з 18,95 млрд доларів США у 2023 р. до 21,04 млрд доларів США до 2030 р., із цим середньорічний темп приросту складатиме 1,5 % протягом цього періоду [2].

Збільшення хворих на діабет, а отже, і зростання попиту на інсулін, призвело до розвитку технологій його виробництва та появи нових продуктів по всьому світу. Багато років поспіль на ринку людського інсуліну домінують три великі компанії – Sanofi, Novo Nordisk A/S та Elli Lilly and Company, які сукупно володіють понад 90 % ринкового доходу [2]. Виробники зосереджені на розробці нових препаратів людського інсуліну різної тривалості дії, аналогів інсуліну різної тривалості дії, інноваційних засобів введення. Так, у червні 2020 р. FDA схвалила новий інсулін швидкої дії Lyumjev® (insulin lispro-aabc) компанії Elli Lilly and Company [5], а у травні 2022 р. ця ж компанія отримала дозвіл на виробництво Mounjaro® (tirzepatid), який є зручним та ефективним засобом у лікуванні діабету 2 типу й ожиріння [6].

Отже, бачимо, що дослідження, спрямовані на аналіз сучасних технологій виробництва інсулінів з подальшим їх впровадженням на вітчизняних підприємствах, є актуальні.

Метою дослідження є аналіз сучасних тенденцій у виробництві інсулінів та систем експресії, що

їх використовують для отримання рекомбінантних білків.

Матеріали та методи. Матеріалами дослідження були публікації в наукових періодичних виданнях; методи дослідження – порівняльний, логічний, аналітичний, контент-аналіз та узагальнення інформації.

Результати та їх обговорення. Попри значні досягнення науки за останні 10-15 років, цукровий діабет взагалі, й особливо цукровий діабет 1 типу, все ще залишається невиліковним захворюванням, і для збереження життя і працездатності хворий повинен постійно отримувати інсулінотерапію, яка є не патогенетичною, а замісною [7]. Тому інсулінотерапія залишається довічною, що природно створює певні труднощі як для хворого, так і для лікаря через необхідність підтримки стану вуглеводного обміну, близького до того, який є у здорової людини.

Інсулінотерапію призначають усім хворим на цукровий діабет 1 типу, які становлять до 7-10 % популяції хворих на діабет, а також частині хворих на цукровий діабет 2 типу (так званий «вторинно інсулінозалежний діабет»). На частку цієї категорії припадає 25-35 % пацієнтів, хворих на діабет 2 типу [8].

До відкриття інсуліну 1921 року пацієнти з діабетом не жили довго. Найуспішнішою терапією було призначення хворим на цукровий діабет суворої дієти з обмеженням вуглеводів. Це забезпечувало пацієнтам ще кілька років життя, але не могло повністю їх вилікувати. Пацієнти помирали від голоду внаслідок суворої дієти, які склалися лише з 450 калорій на день [9]. 1910 року Е. А. Шарпі-Шафер уперше припустив, що у хворих на діабет у підшлунковій залозі не вистачає одного гормону. Фредерік Бантінг 1921 року розробив спосіб попереднього вилучення інсуліну з підшлункової залози собаки. Відокремлена речовина, яка мала вигляд «густого коричневого мулу», забезпечила збереження життя та дала надію мільйонам діабетиків [10].

Багато років джерелом промислового виробництва інсуліну була підшлункова залоза свиней і великої рогатої худоби. Уперше про інсулін з екстрактів підшлункової залози повідомили 1921 року канадські вчені Фредерік Г. Бантінг і Чарльз Х. Бест [10]. Після відкриття інсуліну Бантінгом і Бестом почалися роботи з отримання очищеного інсуліну з екстракту підшлункової залози, що реалізували шотландський психолог Дж. Дж. Р. Маклеод та канадський хімік Дж. Б. Колліп. Маклеод і Бантінг отримали Нобелівську премію з медицини 1923 року за роботу над інсуліном [11]. 1928 року було з'ясовано, що інсулін є поліпептидом, а його амінокислотну послідовність було виявлено 1952 року [12].

Невдовзі після присудження Нобелівської премії фармацевтична компанія Eli Lilly почала масове виробництво інсуліну. Протягом наступних десятиліть виробники пропонували декілька інсулінів повільної дії, перший з яких презентувала компанія Novo Nordisk 1936 року [10]. Інсулін із корів і свиней використовували для лікування діабету протягом багатьох років, він врятував мільйони життів, хоча й не був оптимальний, бо в багатьох людей на нього розвивалася алергічна реакція [13].

Винахід клонування ДНК Стенлі Коеном і Гербертом Боєром ознаменував початок генної інженерії, яка дозволила переносити гени між різними біологічними видами [14]. Їхнє відкриття призвело до створення різноманітних рекомбінантних білків із медичним використанням, зокрема інсуліну та гормону росту. 1978 року для виробництва першого синтетичного «людського» інсуліну, отриманого за допомогою генної інженерії, було використано бактерії кишкової палички. 1982 року компанія Eli Lilly випустила на ринок перший комерційно доступний біосинтетичний людський інсулін під торговою маркою Humulin, дозволений FDA для використання в людей [10].

Сьогодні у світі налічують понад 200 комерційних препаратів інсуліну. Близько 85 % препаратів інсуліну виробляють провідні фармацевтичні компанії світу: Novo Nordisk A/S (Данія), Sanofi (Франція), Eli Lilly and Company (Франція) та Bioton (Польща) [2]. Препарати інсуліну відрізняються між собою клініко-фармакологічними характеристиками, тривалістю дії, ступенем очищення, але всіх їх виробляють на основі технологій рекомбінантних ДНК та використання ефективних систем експресії. Вибір оптимальної системи експресії впливає на вихід, чистоту й біологічну активність продукту [15, 16]. З огляду на складність структури інсуліну та високі стандарти якості до фармацевтичних препаратів, ефективні системи експресії є ключовим фактором у забезпеченні виробництва стабільного та високоякісного рекомбінантного людського інсуліну.

Для комерційного виробництва рекомбінантного людського інсуліну традиційно використовують такі системи експресії: бактеріальну (*Escherichia coli*) та дріжджову (*Saccharomyces cerevisiae*) [16].

E. coli була першою системою експресії, використаною для отримання людського інсуліну в 1978 р. з використанням технології рекомбінантних ДНК дволанцюговим методом [10, 17]. За допомогою *E. coli* отримують тільки вкраплення попередників інсуліну, які потім потрібно розчинити та повторно відділити для створення активного інсуліну [18]. Як зазначено вище, ще 1982 року компанія Eli Lilly випустила на ринок перший комерційно доступний біосинтетичний людський інсулін [15, 19], і до сьогодні кишково паличку активно використовують виробники через легкість проведення генетичних маніпуляцій та вирощування, попри певні недоліки [17].

Серед дріжджових систем експресії інсуліну з 1980-х років комерційно використовують *S. cerevisiae*.

Можливість посттрансляційної модифікації білків та виділення попередника інсуліну в культуральну рідину зумовлює популярність дріжджів у технологіях виробництва інсулінів [20]. Але суттєвою проблемою використання дріжджів є те, що синтезовані ними білки піддаються N-глікозилюванню з високим вмістом манози. Цей процес скорочує період напіврозпаду рекомбінантних білків *in vivo* та активує імунну відповідь у людини, бо білки з такою модифікацією є чужорідними антигенами. Тож перед використанням дріжджі необхідно гуманізувати шляхом модифікації шляхів N-глікозилювання для створення менш імуногенних для людини продуктів [21, 22]. Зараз, окрім людського рекомбінантного інсуліну на основі *S. Cerevisiae*, також виробляють аналоги інсуліну: швидкодіючий інсулін для лікування людини та інсулін тривалої дії Detemir (виробник Novo Nordisk) [10].

Іншою перспективною дріжджовою системою експресії є метилотрофні дріжджі *Pichia pastoris*. Як і *S. Cerevisiae*, *P. pastoris* здійснюють N-глікозилювання з високим вмістом манози, але в останніх олігосахаридний ланцюг складається з 8-14 манозних залишків, він значно коротший, ніж ланцюг *S. cerevisiae* з 50-150 манозних залишків [23, 24].

Для задоволення світової потреби в інсуліні в 16 000 кг на рік необхідні нові ефективні системи експресії. Тому сьогодні досліджують використання інших еукаріотних систем експресії інсуліну, що були б придатні для великомасштабного виробництва [25]. Серед таких систем перспективними для впровадження у виробництво є трансгенні рослини, які характеризуються відсутністю потенційних людських патогенів та наявністю механізмів посттрансляційної модифікації білка, схожих на людські [26]. Трансгенні рослини з цільовим геном, що відповідає за синтез людського інсуліну, отримують традиційною агробактеріальною трансформацією. Наразі успішними є дослідження з використанням рослин *Arabidopsis thaliana*, тютюну, салату та полуниці [10, 26].

Перспективними є дослідження з використанням стовбурових клітин – ембріональних стовбурових клітин (ЕСК), мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) та індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (іПСК) [10, 27-29].

Аналіз різних систем експресії, використовуваних як у великомасштабному виробництві, так і на стадії лабораторних випробувань, наведено в табл.

У великомасштабному виробництві рекомбінантного інсуліну використовують два методи, які базуються на класичних підходах технології рекомбінантних ДНК. Перший метод виробництва інсуліну передбачає синтез проінсуліну; другий – дволанцюговий метод, забезпечує окремий синтез ланцюгів А та В з подальшим зшиванням ланцюгів (рис. 1) [36]. Типові стадії технологічних процесів виробництва рекомбінантного інсуліну обома методами, складені на основі джерел літератури, наведено на рис. 2 та 3 [10, 16].

Таблиця

Порівняння систем експресії, використовуваних у виробництві інсулінів [10, 15-35]

Система експресії (рік схвалення FDA)	Переваги	Недоліки	Нові підходи для вдосконалення систем експресії
1	2	3	4
Прокаріотична система експресії			
<i>Escherichia coli</i> (1982 р.)	Швидкий ріст на дешевих середовищах; висока швидкість реплікації; здатність швидко ампліфікувати гени. Це зумовлює універсальність і економічність для великомасштабного виробництва	Втрата плазмід; розвиток антибіотичних властивостей; відсутність посттрансляційних модифікацій; накопичення цільового білка у вигляді тілець вкраплень у хаотично-розгорнутій формі, що потребує додаткових технологічних операцій; ризики протеолітичної деградації; висока ймовірність помилок трансляції, що може спричинити несприятливі імунологічні реакції у людини	Підхід на основі ПЛР для клонування людського інсуліну, який дозволяє вилучити кілька етапів, як-от афінні мітки, ренатурація білка, етапи відновлення тілець вкраплень та ферментативне розщеплення С-пептиду інсуліну; розробка нового вектора експресії pIBAINS і створення 20 нових штамів <i>E. coli</i> ; створення протеазо-дефіцитних штамів <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> BL-21) із мутацією, яка усуває продукування протеази; введення високоекспресійних кодонів (штами BL-21, BL-21 CodonPlus-RIL і Rosetta); додавання шаперонів для запобігання накопиченню тілець вкраплень
Еукаріотичні системи експресії:			
А. Дріжджові			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2001 р.)	Швидкий ріст, легке вирощування; наявність посттрансляційної модифікації білка, що забезпечує правильне згортання білків та утворення дисульфідних зв'язків	Синтезовані білки мають N-глікозилювання з високим вмістом манози, що є ризиком імунної відповіді у людини; деградація плазмід; трудомісткі методи очищення	Створення гуманізованих дріжджових систем; модифікація рекомбінантної послідовності кДНК В-ланцюга для подовження тривалості дії інсуліну (наприклад, видалення треоніну в 30 положенні та приєднання жирної кислоти у 29 положенні ланцюга В)
<i>Pichia pastoris</i> (2009 р.)	Менший ступінь гіперглікозилювання, олігосахаридний ланцюг складається з 8-14 манозних залишків, він значно коротший, ніж ланцюг <i>S. cerevisiae</i> ; належить до метилотрофних дріжджів, а наявність промотора алкогольоксидази-1, що індукується метанолом, збільшує щільність клітин під час культивування	Наявність у структурі манози та гетерогенність глікозилювання можуть спричинити варіації від партії до партії	Конструювання штамів для вищих рівнів секреції, виробництво білка без метанолу, модифікований механізм N-глікозилювання
Б. Трансгенні рослини			
<i>Arabidopsis thaliana</i> (насіння)	Відсутність потенційних людських патогенів; наявність механізмів посттрансляційної модифікації білка, схожих на людські; короткий період генерації (6 тижнів); можливість легкого вирощування в лабораторних умовах з обмеженим сонячним світлом; повністю прочитаний геном, що полегшує генні маніпуляції; накопичення інсуліну в насінні в субклітинних органелах – олійних тільцях, що полегшує технологічні операції з виділення інсуліну	Проблеми зі стабільністю білка; невідповідні стратегії стримування	Пошук тканиноспецифічних промоторів для уникнення токсичності

Продовження таблиці

1	2	3	4
Тютюн (листя)	Високий урожай листя (накопичення інсуліну у хлоропласті), висока виживаність; утворення білка високої чистоти з мінімальними вимогами до посттрансляційної модифікації	Механізм експресії на основі хлоропласту має вплив хлоропластного глюкану; глікозилювання не властиве людині і може вимагати посттрансляційної модифікації	Пошук шляхів трансформації хлоропластів
Салат (листя)	Довготривала стабільність у листі; більший вихід білка з листя, ніж у рослини тютюну	Потенційне забруднення харчового ланцюга; неправильне глікозилювання	Пошук шляхів трансформації хлоропластів
Полуниця (ягода, кореневі волоски)	Пероральне споживання; можливість розмноження пагонами, що збільшує кількість трансгенних нащадків	Необхідне подальше вивчення для впевненості безпечності перорального застосування у хворих на діабет; небажані алергічні реакції за перорального застосування	Вивчення можливості накопичення білка в кореневих волосках для запобігання переміщенню генетичного матеріалу від генноінженерного організму до іншої популяції чи іншого виду
В. Стовбурові клітини			
Ембріональні стовбурові клітини (ЕСК)	Можливість диференціюватись у різні типи клітин	Етичні проблеми (у більшості випадків клітини ембріона отримують шляхом знищення ембріона), необхідна попередня згода донора; ймовірність імунного відторгнення; генетична нестабільність; ризики утворення пухлини	Розробка підходів до диференціювання ЕСК у ендокринні клітини (попередники підшлункової залози)
Індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (іПСК)	Можливість диференціюватись у різні типи клітин; відсутність етичних проблем; менша ймовірність імунного відторгнення	Потрібні ретровіруси для створення іПСК, ризики розвитку пухлин	Використання невірусних факторів репрограмування для генерації іПСК
Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) кісткового мозку	Легка ізоляція; відсутність етичних проблем	Мінімальний потенціал диференціювання; можливість диференціювання в небажані мезенхімальні лінії	Використання нанотехнологій і регуляції генів посилює здатність МСК до диференціації та проліферації
Мезенхімальні стовбурові клітини з жирової тканини	Відсутність етичних проблем; різні джерела ізоляції; висока гістосумісність і низьке імунне відторгнення	Низька мультипотентність і проліферативна здатність; генетична нестабільність; виявлення апоптозу в новоутворених клітинах	Сумісне використання МСК жирового походження та клітин підшлункової залози
Мезенхімальні стовбурові клітини пуповинної крові	Висока швидкість проліферації та диференціації, у 10 разів більше стовбурових клітин, ніж зібраних з кісткового мозку; протизапальні властивості; антифіброзний потенціал; низький ризик імунного відторгнення	Обмежені клітини можна виділити на один раз з пуповини; менше банків для зберігання пуповини; потрібно більше часу для пересадки	Використання нанотехнологій для сприяння достави ліків і виявлення трансплантованих клітин

Перша технологія передбачає синтез проінсуліну з подальшим очищенням і видаленням С-пептиду шляхом протеолітичного розщеплення (рис. 2). Компанія Eli Lilly використовувала цю технологію для виробництва першого рекомбінантного інсуліну Humulin. Ці рекомбінантні інсуліни першого покоління мають амінокислотну послідовність, ідентичну нативному людському інсуліну, і є кращими проти продуктів інсуліну тваринного походження. Використання технології із синтезом проінсуліну має такі переваги: простота процесу виробництва, можливість високого виходу продукту та менша кількість етапів очищення. Серед недоліків можна назвати необхідність додаткової обробки для отримання активного інсуліну та можливі проблеми з чистотою продукту [10, 13, 15].

Друга технологія побудована на використанні дволанцюгового методу, за якого ланцюги А та В молекули інсуліну синтезуються окремими штамами в різних ферментерах, потім ланцюги спільно інкубують в умовах окислення з утворенням дисульфідних зв'язків (рис. 3). Основою для першого комерційного рекомбінантного інсуліну, розробленого для терапевтичного використання у людини, стала саме технологія з використанням дволанцюгового методу, переваги якої такі: можливість точнішого контролю над процесом виробництва, менше проблем з чистотою продукту, можливість оптимізації кожного етапу синтезу. Водночас ця технологія може вимагати додаткових етапів для з'єднання ланцюгів, що збільшує витрати часу та ресурсів [10, 13, 16].

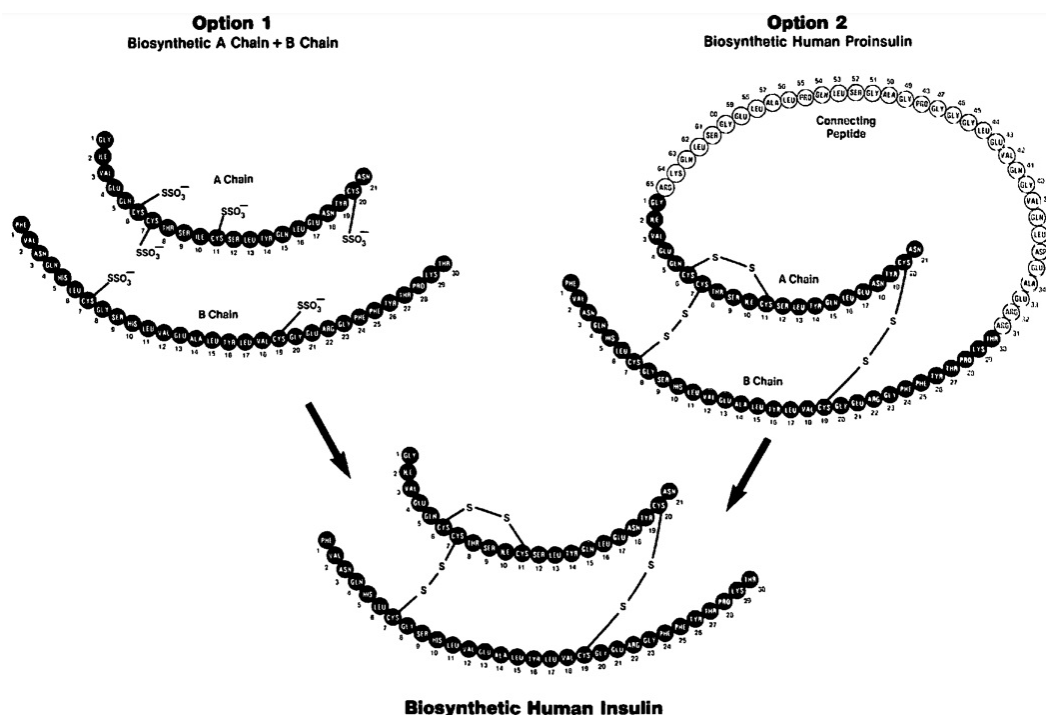


Рис. 1. Підходи до отримання рекомбінантного інсуліну людини:
1 – А-ланцюг + В-ланцюг; 2 – проінсулін; 3 – людський інсулін [36]

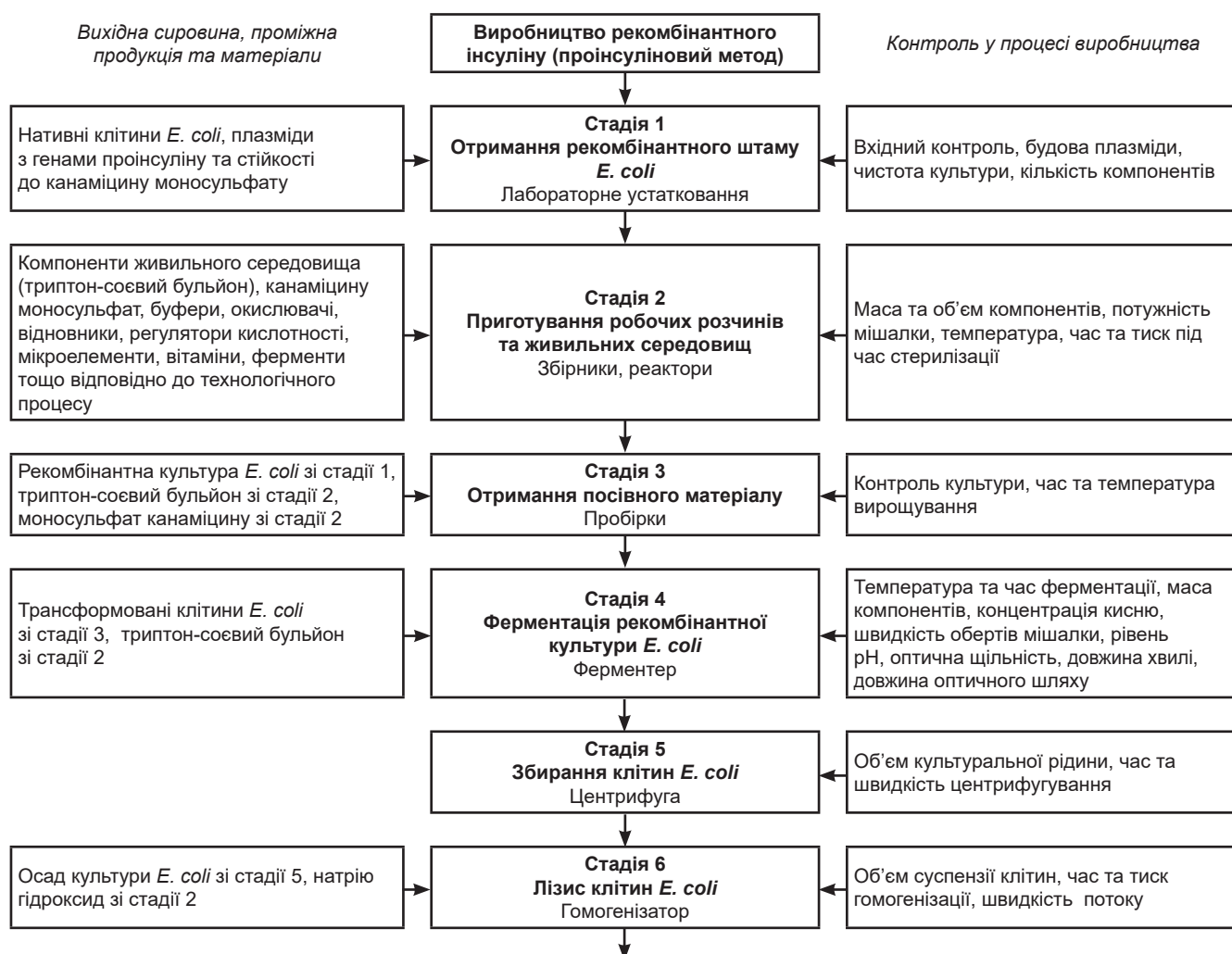


Рис. 2. Технологічна схема виробництва гормону інсуліну (із синтезом проінсуліну) (початок)

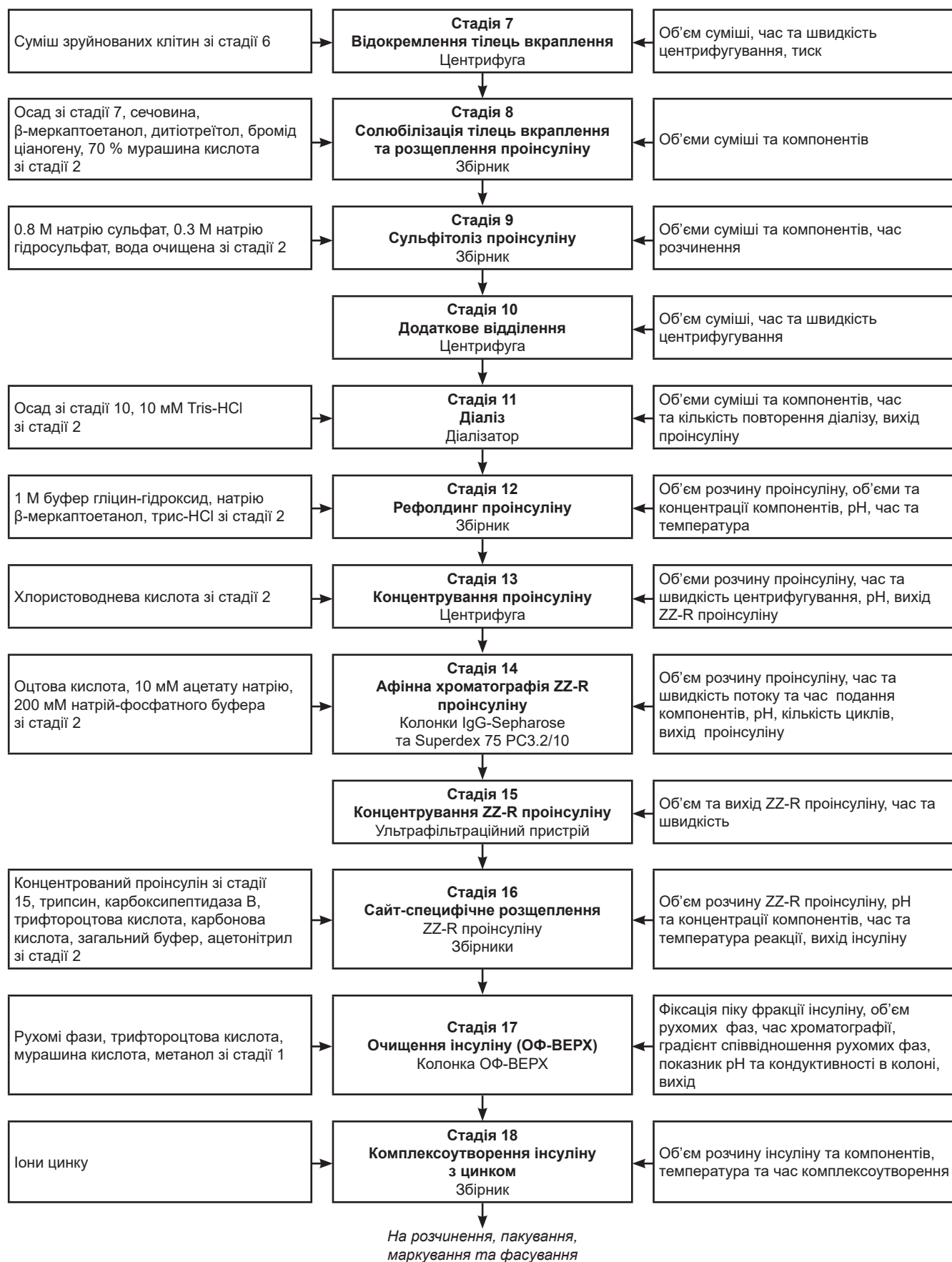


Рис. 2. Технологічна схема виробництва гормону інсуліну (із синтезом проінсуліну) (закінчення)

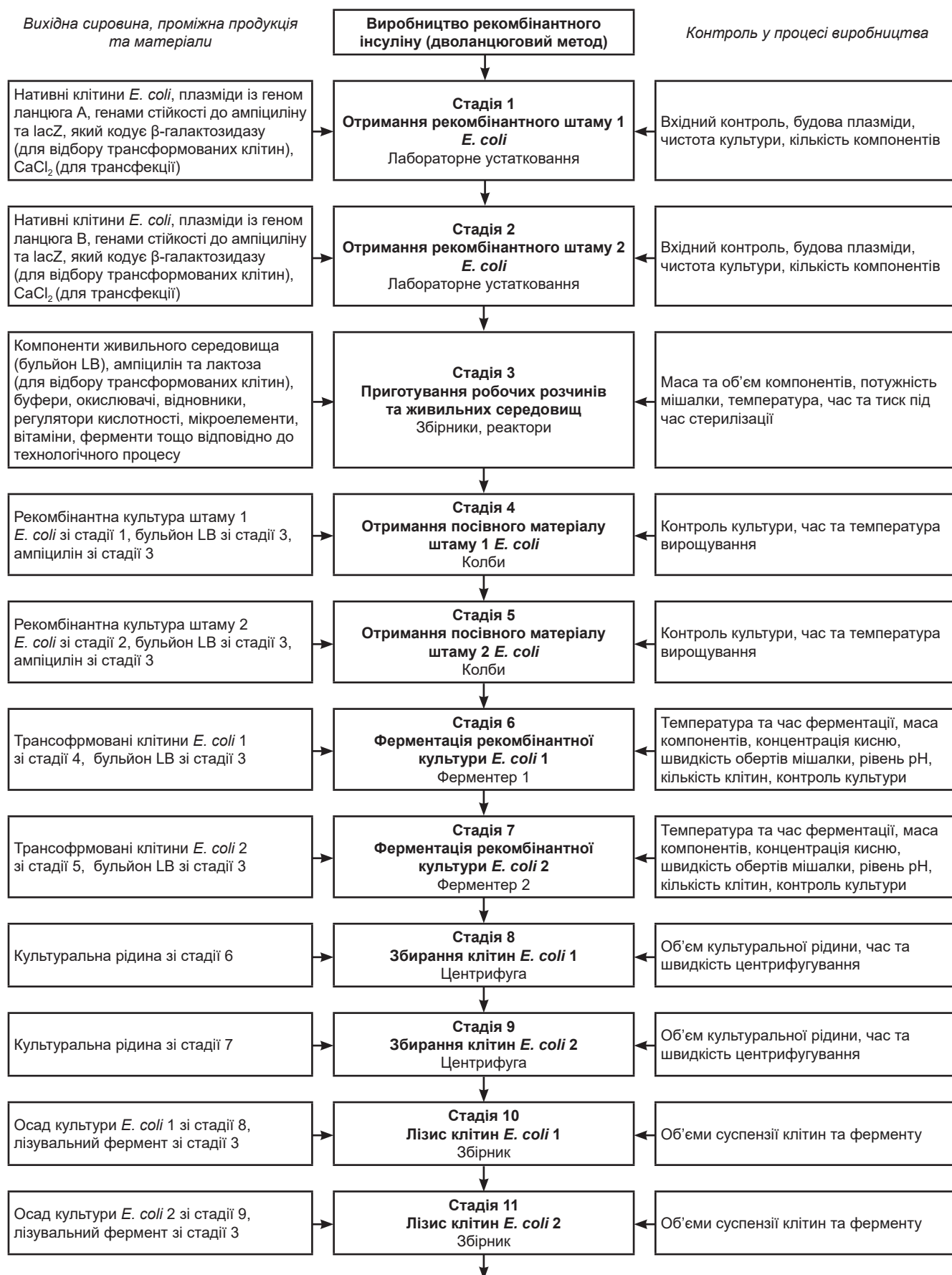


Рис. 3. Технологічна схема виробництва гормону інсуліну (дволанцюговим методом) (початок)

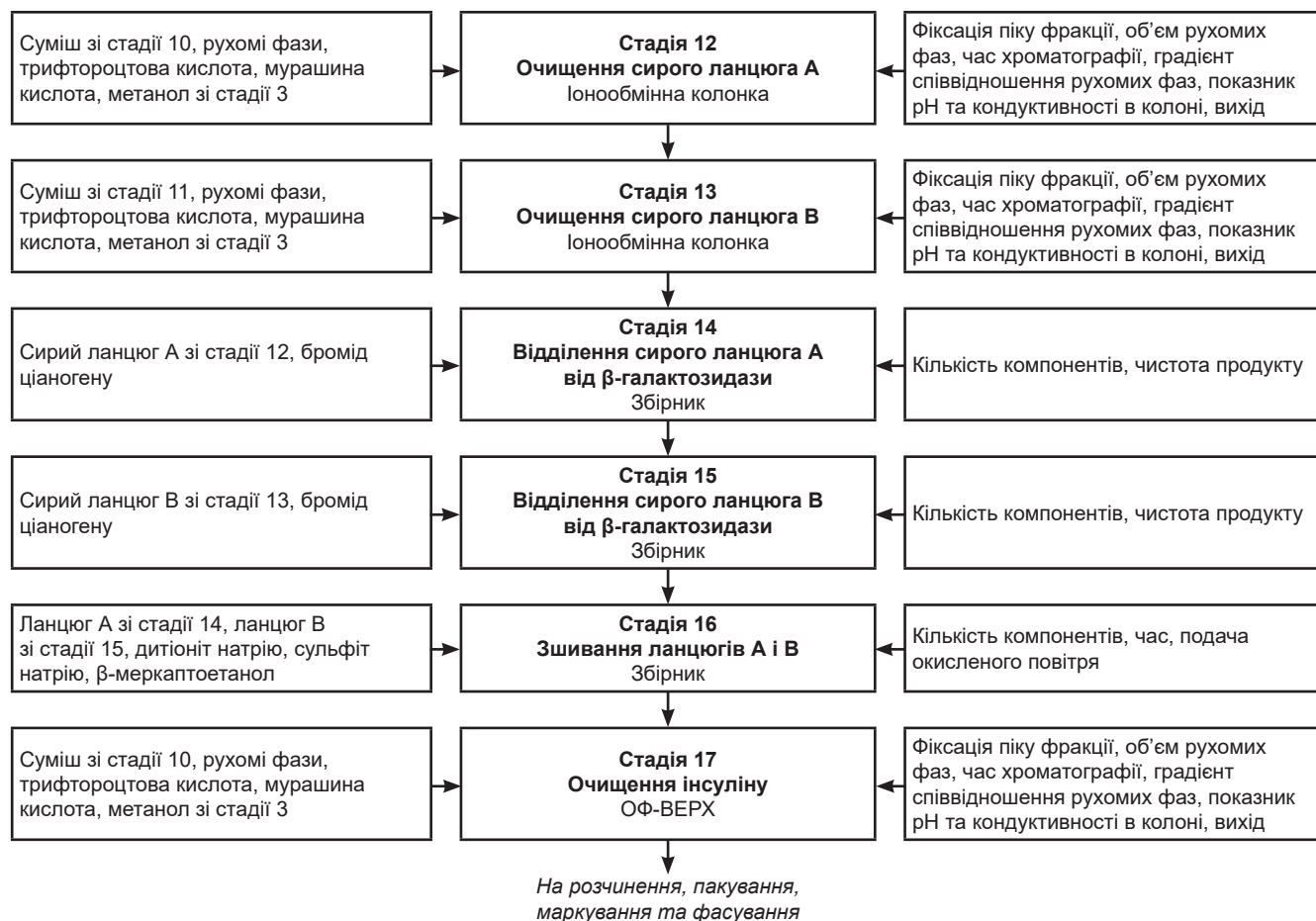


Рис. 3. Технологічна схема виробництва гормону інсуліну (дволанцюговим методом) (закінчення)

Обидва методи виробництва рекомбінантного інсуліну – із синтезом проінсуліну та дволанцюговий метод – мають свої переваги та недоліки, які треба враховувати під час вибору оптимальної схеми. Метод із синтезом проінсуліну відзначається простотою процесу виробництва та можливістю високого виходу продукту. Використання цієї технології характеризується меншими витратами на виробництво та часом процесу. Але для отримання активного інсуліну необхідне додаткове оброблення напівпродукту, а також існує можливість виникнення проблем з чистотою продукту. Дволанцюговий метод вимагає більше часу та ресурсів на з'єднання ланцюгів, але його перевагами є точніший контроль над процесом виробництва та менші проблеми з чистотою продукту. Можливість оптимізації кожного етапу біосинтезу дозволяє підвищити ефективність та якість виробництва. Отже, вибір між цими двома методами залежить від конкретних умов, можливостей та потреб виробника.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Аналіз даних наукової літератури засвідчив, що основними методами виробництва препаратів інсуліну з 1980-х років залишаються проінсуліновий і дволанцюговий, засновані на технологіях рекомбінантної ДНК. Проінсуліновий метод вважають більш

ефективним і рентабельним проти дволанцюгового, бо ця технологія складається з роботи з одним рекомбінантним штамом. Вибір між цими двома методами залежить від конкретних потреб виробника: для одних випадків раціональним є швидкий метод із синтезом проінсуліну, для інших – більш точний та контрольований дволанцюговий метод.

Системами експресії, використовуваними в сучасних технологіях великомасштабних виробництв, залишаються бактеріальна (*Escherichia coli*) та дріжджова (*Saccharomyces cerevisiae*). Але за використання *E. coli* попередники інсуліну виробляються в тільцях вкращення, а повністю функціональні поліпептиди отримують шляхом стадій сольобілізації та рефолдингу; система ж на основі дріжджів дає розчинний попередник інсуліну, який секретується в культуральну рідину, проте потребує попередньої гуманізації через ризики імунної відповіді в людини. Отже, сучасні технології не можуть задовольнити дедалі більший попит на доступний інсулін через обмеження виробничих потужностей і високу вартість виробництва, тому тривають дослідження з пошуку нових ефективних систем експресії, як-от клітини рослин та ссавців, зокрема *Arabidopsis thaliana*, тютюну, салату, полуниці, стовбурових клітин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. The WHO Global Diabetes Compact. World Health Organization, WHO. 2021. URL: <https://www.who.int/initiatives/the-who-global-diabetes-compact> (Date of access: 30.04.2024).
2. U.S. Human insulin market size, share & COVID-19 impact analysis, by type (analogue insulin and traditional human insulin), by diabetes type (diabetes 1 and diabetes type 2), by distribution channel (hospital pharmacy and retail and online pharmacy), and regional forecast, 2023-2030. URL: <https://www.fortunebusinessinsights.com/u-s-human-insulin-market-107469> (Date of access: 30.04.2024).
3. International Diabetes Federation. URL: <https://idf.org/> (Date of access: 30.04.2024).
4. Human insulin market size, share & industry analysis, by type (analogue insulin, traditional human insulin), by diabetes type (type 1, type 2), by distribution channel (retail pharmacy, hospital pharmacy, online pharmacy), and regional forecast, 2019-2026. Fortune Business Insights. 2020. URL: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/human-insulin-market-100395> (Date of access: 30.04.2024).
5. Lyumjev® (insulin lispro-aabc) Injection Approved by U.S. FDA for Children with Diabetes. URL: <https://www.lilly.com/news/media/media-kits/lyumjev> (Date of access: 30.04.2024).
6. Elli Lilly and Company. URL: <https://www.lilly.com/our-medicines/current-medicines> (Date of access: 30.04.2024).
7. Журавльова Л. В., Кривоносова О. М. Актуальні підходи до лікування хворих на цукровий діабет : навч. посіб. для студентів, лікарів-інтернів терапевтів, ендокринологів та лікарів загальної практики. Харків : ХНМУ, 2019. 124 с.
8. Внутрішня медицина: модуль 1, змістовий модуль 1 «Основи діагностики, лікування та профілактики основних хвороб ендокринної системи» : навч. посіб. для студентів 4 курсу мед. ф-тів в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», спец. 222 «Медицина», 228 «Педіатрія» / С. М. Кисельов та ін. Запоріжжя : ЗДМУ, 2021. 137 с.
9. Lewis G. F., Brubaker P. L. The discovery of insulin revisited: lessons for the modern era. *The Journal of Clinical Investigation*. 2021. Vol. 131 (1). P. 142239. DOI: 10.1172/JCI142239.
10. Human Insulin: History, Recent Advances, and Expression Systems for Mass Production / J. Alyas et al. *Biomedical Research and Therapy*. 2021. Vol. 8 (9). P. 4540-4561. DOI: 10.15419/bmrat.v8i9.692.
11. Jorgensen-Earp C. R., Jorgensen D. D. «To Fly Under Borrowed Colours»: Insulin Discovery Accounts, Scientific Credit, and the Nobel Prize. *Rhetoric and Public Affairs*. 2020. Vol. 23 (1). P. 1-45. DOI: 10.14321/rhetpublaffa.23.1.0001.
12. The discovery of insulin: an important milestone in the history of medicine / I. Vecchio et al. *Frontiers in Endocrinology*. 2018. Vol. 9. P. 613. DOI: 10.14321/rhetpublaffa.23.1.0001.
13. Strakosch C. The discovery of Insulin. 2000. Ramsay Health Care. URL: https://web.archive.org/web/20140125100917/http://historic-greenslopes.com/documents/Booklet_The%20Discovery%20of%20Insulin%2006.pdf (Date of access: 30.04.2024).
14. The Nobel Prize in Chemistry 1980. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1980/summary/> (Date of access: 30.04.2024).
15. Riggs A. D. Making, Cloning, and the Expression of Human Insulin Genes in Bacteria: The Path to Humulin. *Endocrine Reviews*. 2021. Vol. 42 (3). P. 374-380. DOI: 10.1210/endrev/bnaa029.
16. Comprehensive Review of the Evolution of Insulin Development and Its Delivery Method / V. Sugumar et al. *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14. P. 1406. DOI: 10.3390/pharmaceutics14071406.
17. Production of biopharmaceuticals in *E. coli*: current scenario and future perspectives / M. N. Baeshen et al. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2015. Vol. 25 (7). P. 953-962. DOI: 10.4014/jmb.1412.12079.
18. Expression and purification of recombinant human insulin from *E. coli* 20 strain / M. Zielinski et al. *Protein Expression and Purification*. 2019. Vol. 57. P. 63-9. DOI: 10.1016/j.pep.2019.02.002.
19. Hegele R. A., Maltman G. M. Insulin's centenary: the birth of an idea. *The Lancet. Diabetes and Endocrinology*. 2020. Vol. 8 (12). P. 971-977. DOI: 10.1016/S2213-8587(20)30337-5.
20. Yeast expression systems: overview and recent advances / R. Baghban et al. *Molecular Biotechnology*. 2019. Vol. 61 (5). P. 365-384. DOI: 10.1007/s12033-019-00164-8.
21. Wildt S., Gerngross T. U. The humanization of N-glycosylation pathways in yeast. *Nature Reviews. Microbiology*. 2005. Vol. 3 (2). P. 119-28. DOI: 10.1038/nrmicro1087.
22. Humanizing glycosylation pathways in eukaryotic expression systems / A. H. Khan et al. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 33 (1). P. 4. DOI: 10.1007/s11274-016-2172-7.
23. *Pichia pastoris* expression system: a potential candidate to express protein in industrial and biopharmaceutical domains / I. Safder et al. *Biometrical Letters*. 2018. Vol. 4 (1). P. 1-14.
24. Karbalaie M., Rezaee S. A., Farsiani H. *Pichia pastoris*: A highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. *Journal of Cellular Physiology*. 2020. Vol. 235 (9). P. 5867-5881. DOI: 10.1002/jcp.29583.
25. Insulin evolution: A holistic view of recombinant production advancements / A. Sahoo et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024. Vol. 277 (1). P. 133951. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133951.
26. Critical analysis of the commercial potential of plants for the production of recombinant proteins / S. Schillberg et al. *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. P. 720. DOI: 10.3389/fpls.2019.00720.
27. Efficiency of Stem Cell (SC) Differentiation into Insulin-Producing Cells for Treating Diabetes: a Systematic Review / M. Nemati et al. *Stem cells international*. 2021. Vol. 25. P. 6652915. DOI: 10.1155/2021/6652915.
28. Generation of glucose-responsive, insulin-producing cells from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells / K. R. Prabakar et al. *Cell Transplantation*. 2012. Vol. 21 (6). P. 1321-1339. DOI: 10.3727/096368911X612530.
29. Negi N., Griffin M. D. Effects of mesenchymal stromal cells on regulatory T cells: current understanding and clinical relevance. *Stem Cells*. 2020. Vol. 38 (5). P. 596-605. DOI: 10.1002/stem.3151.
30. A novel and more efficient biosynthesis approach for human insulin production in *Escherichia coli* (*E. coli*) / K. Govender et al. *AMB Express*. 2020. Vol. 10 (1). P. 43. DOI: 10.1186/s13568-020-00969-w.

31. Methanol-independent protein expression by AOX1 promoter with trans-acting elements engineering and glucose-glycerol-shift induction in *Pichia pastoris* / J. Wang et al. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7 (1). P. 41850. DOI: 10.1038/srep41850.
32. Dong O. X., Ronald P. C. Genetic engineering for disease resistance in plants: recent progress and future perspectives. *Plant Physiology*. 2019. Vol. 180 (1). P. 26-38. DOI: 10.1104/pp.18.01224.
33. Root and shoot parts of strawberry: factories for production of functional human pro-insulin / A. Tavizi et al. *Molecular Biology Reports*. 2015. Vol. 42 (5). P. 1013-1023. DOI: 10.1007/s11033-014-3837-7.
34. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress / Y. Shi et al. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2017. Vol. 16 (2). P. 115-130. DOI: 10.1038/nrd.2016.245.
35. Induced pluripotent stem cells: hope in the treatment of diseases, including muscular dystrophies / D. G. Beghini et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21 (15). P. 5467. DOI: 10.3390/ijms21155467.
36. Equivalent Recombinant Human Insulin Preparations and their Place in Therapy / J. Sandow et al. *European Journal of Endocrinology*. 2015. Vol. 11 (1). P. 10-16. DOI: 10.17925/EE.2015.11.01.10.

REFERENCES

1. The WHO Global Diabetes Compact. World Health Organization, WHO. 2021. Available at: <https://www.who.int/initiatives/the-who-global-diabetes-compact>.
2. U.S. Human insulin market size, share & COVID-19 impact analysis, by type (analogue insulin and traditional human insulin), by diabetes type (diabetes 1 and diabetes type 2), by distribution channel (hospital pharmacy and retail and online pharmacy), and regional forecast, 2023-2030. Available at: <https://www.fortunebusinessinsights.com/u-s-human-insulin-market-107469>.
3. International Diabetes Federation. Available at: <https://idf.org/>.
4. Human insulin market size, share & industry analysis, by type (analogue insulin, traditional human insulin), by diabetes type (type 1, type 2), by distribution channel (retail pharmacy, hospital pharmacy, online pharmacy), and regional forecast, 2019-2026. Fortune Business Insights. 2020. Available at: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/human-insulin-market-100395>.
5. Lyumjev® (insulin lispro-aabc) Injection Approved by U.S. FDA for Children with Diabetes. Available at: <https://www.lilly.com/news/media/media-kits/lyumjev>.
6. Elli Lilly and Company. Available at: <https://www.lilly.com/our-medicines/current-medicines>.
7. Zhuravlova, L. V., Kryvonosova, O. M. (2019). *Aktualni pidkhody do likuvannia khvorykh na tsukrovyy diabet: navch. posib. dlia studentiv, likariv-intervint terapeutiv, endokrynolohiv ta likariv zahalnoi praktyky*. Kharkiv: KhNMU.
8. Kyselov, S. M., Kadzharian, V. H., Soloviyuk, O. O., Hura, E. Yu., Kapshytar, N. I. (2021). *Vnutrishnia medytsyna: modul 1, zmistovyy modul 1 «Osnovy diahnozyky, likuvannia ta profilaktyky osnovnykh khvorob endokrynnoi systemy»: navch. posib. dlia studentiv 4 kursu med. f-tiv v haluzi znan 22 «Okhrona zdorovia», spets. 222 «Medytsyna», 228 «Pediatriia»*. Zaporizhzhia: ZDMU.
9. Lewis, G. F., Brubaker, P. L. (2021). The discovery of insulin revisited: lessons for the modern era. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(1), 142239. doi: 10.1172/JCI142239.
10. Alyas, J., Rafiq, A., Amir, H., Khan, S. U., Sultana, T., Ali, A. et al. (2021). Human Insulin: History, Recent Advances, and Expression Systems for Mass Production. *Biomedical Research and Therapy*, 8(9), 4540-4561. doi: 10.15419/bmrat.v8i9.692.
11. Jorgensen-Earp, C. R., Jorgensen, D. D. (2020). «To Fly Under Borrowed Colours»: Insulin Discovery Accounts, Scientific Credit, and the Nobel Prize. *Rhetoric and Public Affairs*, 23(1), 1-45. doi: 10.14321/rhetpublaffa.23.1.0001.
12. Vecchio, I., Tornali, C., Bragazzi, N. L., Martini, M. (2018). The discovery of insulin: an important milestone in the history of medicine. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 613. doi: 10.14321/rhetpublaffa.23.1.0001.
13. Strakosch, C. The discovery of Insulin. 2000. Ramsay Health Care. Available at: https://web.archive.org/web/20140125100917/http://historicgreenslopes.com/documents/Booklet_The%20Discovery%20of%20Insulin%2006.pdf.
14. The Nobel Prize in Chemistry 1980. Available at: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1980/summary/>.
15. Riggs, A. D. (2021). Making, Cloning, and the Expression of Human Insulin Genes in Bacteria: The Path to Humulin. *Endocrine Reviews*, 42(3), 374-380. doi: 10.1210/endrev/bnaa029.
16. Sugumar, V., Ang, K. P., Alshanon, A. F., Sethi, G., Chen Yong, P. V., Looi, C. Y., Wong, W. F. (2022). Comprehensive Review of the Evolution of Insulin Development and Its Delivery Method. *Pharmaceutics*, 14, 1406. doi: 10.3390/pharmaceutics14071406.
17. Baeshen, M. N., Al-Hejin, A. M., Bora, R. S., Ahmed, M. M. M., Ramadan, H. A. I., Saini, K. S. et al. (2015). Production of biopharmaceuticals in *E. coli*: current scenario and future perspectives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(7), 953-962. doi: 10.4014/jmb.1412.12079.
18. Zielinski, M., Romanik-Chruścielewska, A., Mikiewicz, D., Łukasiewicz, N., Sokołowska, I., Antosik, J. et al. (2019). Expression and purification of recombinant human insulin from *E. coli* 20 strain. *Protein Expression and Purification*, 157, 63-69. doi: 10.1016/j.pep.2019.02.002.
19. Hegele, R. A., Maltman, G. M. (2020). Insulin's centenary: the birth of an idea. *The Lancet. Diabetes and Endocrinology*, 8(12), 971-977. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30337-5.
20. Baghban, R., Farajnia, S., Rajabibazl, M., Ghasemi, Y., Mafi, A. Ali., Hoseinpoor, R. et al. (2019). Yeast expression systems: overview and recent advances. *Molecular Biotechnology*, 61(5), 365-384. doi: 10.1007/s12033-019-00164-8.
21. Wildt, S., Gerngross, T. U. (2005). The humanization of N-glycosylation pathways in yeast. *Nature Reviews. Microbiology*, 3(2), 119-28. doi: 10.1038/nrmicro1087.
22. Khan, A. H., Bayat, H., Rajabibazl, M., Sabri, S., Rahimpour, A. (2017). Humanizing glycosylation pathways in eukaryotic expression systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(1), 4. doi: 10.1007/s11274-016-2172-7.
23. Safder, I., Khan, S., Islam, Iram-us, Kazim Ali, M., Bibi, Z., Waqas, M. (2018). *Pichia pastoris* expression system: a potential candidate to express protein in industrial and biopharmaceutical domains. *Biometrical Letters*, 4(1), 1-14.

24. Karbalaie, M., Rezaee, S. A., Farsiani, H. (2020). *Pichia pastoris*: A highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. *Journal of Cellular Physiology*, 235(9), 5867-5881. doi: 10.1002/jcp.29583.
25. Sahoo, A., Das, P. K., Dasu, V. V., Patra, S. (2024). Insulin evolution: A holistic view of recombinant production advancements. *International Journal of Biological Macromolecules*, 277(1), 133951. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133951
26. Schillberg, S., Raven, N., Spiegel, H., Rasche, S., Buntru, M. (2019). Critical analysis of the commercial potential of plants for the production of recombinant proteins. *Frontiers in Plant Science*, 10, 720. doi: 10.3389/fpls.2019.00720.
27. Nemati, M., Omrani, G. H. R., Ebrahimi, B., Alizadeh, A. (2021). Efficiency of Stem Cell (SC) Differentiation into Insulin-Producing Cells for Treating Diabetes: a Systematic Review. *Stem cells international*, 25, 6652915. doi: 10.1155/2021/6652915.
28. Prabakar, K. R., Domínguez-Bendala, J., Molano, R. D., Pileggi, A., Villate, S., Ricordi, C., Inverardi, L. (2012). Generation of glucose-responsive, insulin-producing cells from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Cell Transplantation*, 21(6), 1321-1339. doi: 10.3727/096368911X612530.
29. Negi, N., Griffin, M. D. (2020). Effects of mesenchymal stromal cells on regulatory T cells: current understanding and clinical relevance. *Stem Cells*, 38(5), 596-605. doi: 10.1002/stem.3151.
30. Govender, K., Naicker, T., Lin, J., Baijnath, S., Chuturgoon, A. A., Abdul, N. S. et al. (2020). A novel and more efficient biosynthesis approach for human insulin production in *Escherichia coli* (E. coli). *AMB Express*, 10(1), 43. doi: 10.1186/s13568-020-00969-w.
31. Wang, J., Wang, X., Shi, L., Qi, F., Zhang, P., Zhang, Y. et al. (2017). Methanol-independent protein expression by AOX1 promoter with trans-acting elements engineering and glucose-glycerol-shift induction in *Pichia pastoris*. *Scientific Reports*, 7(1), 41850. doi: 10.1038/srep41850.
32. Dong, O. X., Ronald, P. C. (2019). Genetic engineering for disease resistance in plants: recent progress and future perspectives. *Plant Physiology*, 180(1), 26-38. doi: 10.1104/pp.18.01224.
33. Tavizi, A., Javaran, M. J., Moieni, A., Mohammadi-Dehcheshmeh, M., Mohebodini, M., Ebrahimi, E. (2015). Root and shoot parts of strawberry: factories for production of functional human pro-insulin. *Molecular Biology Reports*, 42(5), 1013-1023. doi: 10.1007/s11033-014-3837-7.
34. Shi, Y., Inoue, H., Wu, J. C., Yamanaka, S. (2017). Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(2), 115-130. doi: 10.1038/nrd.2016.245.
35. Beghini, D. G., Horita, S. I., Cascabulho, C. M., Alves, L. A., Henriques-Pons, A. (2020). Induced pluripotent stem cells: hope in the treatment of diseases, including muscular dystrophies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5467. doi: 10.3390/ijms21155467.
36. Sandow, J., Landgraf, W., Becker, R., Seipke, G. (2015). Equivalent Recombinant Human Insulin Preparations and their Place in Therapy. *European Journal of Endocrinology*, 11(1), 10-16. doi: 10.17925/EE.2015.11.01.10.

Відомості про авторів:

Калюжная О. С., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>
Хохленкова Н. В., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>
Паненко М. В., здобувачка вищої освіти, Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: minionmishel@gmail.com

Information about authors:

Kaliuzhnaia O. S., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: kalyuzhnayao.s@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8187-517X>
Khokhlenkova N. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: hohnatal@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1676-7591>
Panenko M. V., higher education applicant, Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, area of knowledge 22 "Healthcare", specialty 221 "Dentistry". E-mail: minionmishel@gmail.com

Надійшла до редакції 17.10.2024 р.

I. О. Давидова¹, О. А. Рубан¹, Г. Д. Сліпченко¹, І. В. Зупанець², О. І. Іванюк¹

¹ Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

² АТ «Фармак», м. Київ, Україна

Обґрунтування складу сублінгвальних таблеток для лікування порушень діяльності ЦНС

Мета роботи – розробити склад сублінгвальних таблеток з L-триптофаном, гліцином та півонії екстрактом сухим.

Матеріали та методи. Як активні фармацевтичні інгредієнти використовували субстанції L-триптофану, гліцину та півонії екстракт сухий; як допоміжні речовини – Lactose GranuLac 200, МКЦ 102, HPMC methocel K4M CR Premium, HPMC methocel E4M CR Premium, аспартам, мальтодекстрин, сорбіт, сукралозу, Mint cloroph FLV PDR, Strawberry FLV PDR, Apple FLV PDR, Plasdone K-25, кросповідон XL-10, неусилін та кальцію стеарат. Фармако-технологічні дослідження здійснювали згідно з методиками ДФУ.

Результати та їх обговорення. Дослідження фармакотехнологічних властивостей АФІ продемонстрували незадовільні результати (погана текучість, слабкі когезійні властивості; висока гігроскопічність екстракту півонії), тому було ухвалено рішення покращити технологічні властивості діючих речовин шляхом вологого гранулювання. Як зв'язувальну речовину обрали Plasdone K-25 (15 % водний розчин). Далі обирали мукоадгезив для покращення біодоступності діючих речовин. З огляду на дані літератури до складу дослідних зразків було введено HPMC – HPMC methocel E4M CR Premium та HPMC methocel K4M CR Premium. За результатами досліджень зупинилися на HPMC methocel K4M CR Premium. Розроблені таблетки мали гіркий присмак, зумовлений наявністю триптофану й екстракту півонії. Для корегування смаку та запаху використали аспартам і Mint cloroph FLV PDR. Експериментально визначили їхній оптимальний вміст у складі препарату.

Висновки. У результаті проведених досліджень обрано зв'язувальну речовину для гранулювання таблеткової суміші – Plasdone K-25; мукоадгезив для покращення біодоступності – HPMC methocel K4M CR Premium; коригенти смаку та запаху для маскування гіркого присмаку сублінгвальних таблеток – аспартам та Mint cloroph FLV PDR.

Ключові слова: L-триптофан; гліцин; півонії екстракт сухий; сублінгвальні таблетки; волога грануляція, корекція смаку.

I. O. Davydova¹, O. A. Ruban¹, H. D. Slipchenko¹, I. V. Zupanets², O. I. Ivaniuk¹

¹ National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

² JSC "Farmak", Kyiv, Ukraine

Substantiation of the composition of sublingual tablets for the treatment of CNS disorders

Aim. To develop the composition of sublingual tablets with L-tryptophan, glycine and a dry peony extract.

Materials and methods. L-tryptophan, glycine and a dry peony extract were used as active pharmaceutical ingredients; Lactose GranuLac 200, MCC 102, HPMC methocel K4M CR Premium, HPMC methocel E4M CR Premium, aspartame, maltodextrin, sorbitol, sucralose, Mint cloroph FLV PDR, Strawberry FLV PDR, Apple FLV PDR, Plasdone K-25, crospovidone XL-10, nonessylin and calcium stearate were used as excipients. The pharmacotechnological studies were conducted in accordance with the methods of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Results and discussion. The studies of the pharmacotechnological properties of APIs showed unsatisfactory results (poor fluidity, poor cohesive properties; high hygroscopicity of the peony extract), so it was decided to improve the technological properties of the active substances by wet granulation. Plasdone K-25 (15% aqueous solution) was chosen as a binder. The next step was to select a flour adhesive to improve the bioavailability of the active ingredients. According to the literature, HPMC was included in the composition of the test samples: HPMC methocel E4M CR Premium and HPMC methocel K4M CR Premium. According to the research results, HPMC methocel K4M CR Premium was included in the composition. The tablets developed had a bitter taste due to the presence of tryptophan and the peony extract. To correct the taste and odor, aspartame and Mint cloroph FLV PDR were used. Their optimal content in the formulation was experimentally determined.

Conclusions. As a result of the studies conducted, the following substances have been selected: the binder for granulating the tablet mixture – Plasdone K-25; the flour adhesive to improve bioavailability – HPMC methocel K4M CR Premium; flavors for taste and odor to mask the bitter taste of sublingual tablets – aspartame and Mint cloroph FLV PDR.

Keywords: L-tryptophan; glycine; dry peony extract; sublingual tablets; wet granulation, taste correction

Вступ. Протягом останніх десятиліть зростає попит на сублінгвальні лікарські засоби. Провідні фармацевтичні компанії переглядають стратегії використання допоміжних речовин як засобів доставки активних фармацевтичних інгредієнтів для підвищення їхньої ефективності, тому сублінгвальні препарати інтенсивно вивчають. Ця лікарська форма зарекомендувала себе як ефективна альтернатива таблетованим препаратам, що розпадаються в шлунку. Відповідно до визначення ДФУ, сублінгвальні таблетки – це тверді однодозові лікарські засоби, що їх застосовують під язиком для отримання системної дії. Їх виготовляють пресуванням суміші порошків активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин або їх грануляту [1]. Завдяки швидкій дії, достатній ефективності, простоті та економічності виготовлення сублінгвальні препарати набули особливої популярності [2]. Це зумовлює актуальність розробки сублінгвальних таблеток, що їх використовують у разі порушення діяльності ЦНС.

Фармацевтична розробка лікарського препарату у формі сублінгвальних таблеток пов'язана з певними вимогами, які потрібно враховувати для успішної реалізації переваг цієї лікарської форми (ЛФ): біодоступність, негайний системний ефект, легкість вживання, поліпшений комплаєнс тощо. Фармакологічний ефект лікарського засобу залежить від швидкості вивільнення АФІ у під'язикову ділянку рота. Повільне та поступове вивільнення підвищує біодоступність діючих речовин та сприяє їх максимальному всмоктуванню.

Метою нашої роботи було визначити оптимальний якісний та кількісний зміст допоміжних речовин у складі фармацевтичної композиції у формі сублінгвальних таблеток з L-триптофаном, гліцином та півонії екстрактом сухим. Для покращення біодоступності й органолептичних властивостей необхідно було обрати мукоадгезив і коригенти смаку та запаху.

Матеріали та методи. У дослідженнях використали як АФІ: L-триптофан (Stark Pharm, Україна), гліцин (Ajinomoto Co., Inc., Японія), півонії екстракт сухий («Aroma-Zone», France); як допоміжні речовини: Lactose GranuLac 200, МКЦ 102, HPMC methocel K4M CR Premium, HPMC methocel E4M CR Premium, аспартам, мальтодекстрин, сорбіт, сукралозу, Mint cloroph FLV PDR, Strawberry FLV PDR, Apple FLV PDR, Plasdone K-25, кросповідон XL-10, неусилін, кальцію стеарат. Фармакотехнологічні властивості вивчали за фармакопейними методами: розпадання таблеток (ДФУ 2.9.1, British Pharmacopoeia. 2011) [1, 3], стираність таблеток без оболонки (ДФУ 2.9.7) та стійкість таблеток до роздавлювання (ДФУ 2.9.8) [1].

Смакові властивості таблеток визначали із застосуванням методів оцінювання коригентів смаку та запаху за допомогою «смакової панелі» О. І. Тенцової та «смакової карти» І. А. Єгорова [4]. Метод, запропонований О. І. Тенцовою, заснований на розмежуванні інтенсивності сприйняття смаків і емоцій під час проведення аналізу. Смак оцінювали за п'ятибальною системою за допомогою таких критеріїв: дуже приємний – 5, приємний – 4, непоганий – 3, поганий – 2,

дуже поганий – 1; нетерпкий, негіркий – 5, незначно терпкий або гіркий – 4, слабо терпкий або гіркий – 3, терпкий або гіркий – 2, дуже терпкий або гіркий – 1. За цими даними виводили числовий індекс основного смаку.

Метод оцінювання смаку, запропонований І. А. Єгоровим, полягає у складанні формул смаку за допомогою літер і числових індексів. Відчуття смаків умовно позначали літерами (О – солодкий, Г – гіркий, С – солоний, К – кислий) і цифровими індексами (1 – несолодкий, негіркий, несолоний, некислий; 2 – слабо солодкий, слабо гіркий, слабо солоний, слабо кислий; 3 – солодкий, гіркий, солоний, кислий; 4 – дуже солодкий, дуже гіркий, дуже солоний, дуже кислий). Смак оцінювала група добровольців, яка складалася з 10 осіб.

Результати та їх обговорення. На першому етапі досліджень було виготовлено дослідні зразки таблеток, що містили як АФІ L-триптофан, гліцин та півонії екстракт сухий. Враховуючи незадовільні фармакотехнологічні властивості АФІ та їх суміші (погана текучість, слабкі когезійні властивості, гігроскопічність) [5], до складу зразків ввели: Lactose GranuLac 200 та МКЦ 102 як наповнювачі; кросповідон XL-10 як розпушувач; неусилін, кальцію стеарат як антифрикційні речовини. На першому етапі таблетки отримували методом прямого пресування, але цей метод виявився непридатним через розшарування таблеткової маси та неоднорідне дозування. Це було підставою для застосування методу вологого гранулювання для отримання таблеток.

Зважаючи на літературні дані, як зволожувач обрали полівінілпіролідон (Plasdone K-25) [6]. Грануляти виготовляли із використанням водних і спиртових розчинів полівінілпіролідону – 5 %, 10 %, 15 % (табл. 1). Склад 6 виготовлено методом роздільного гранулювання, коли спочатку гранулювали суміш допоміжних речовин з півонії екстрактом сухим, окремо отримували гранулят з гліцином та триптофаном. Після висушування отримані гранули об'єднували. Варто зазначити, що відмінність складу 3 від 4 полягала в збільшенні кількості зволожувача.

Одержані грануляти пресували в таблетку діаметром 11 мм на гідравлічному пресі під тиском 120 МПа. Після цього визначали міцність отриманої таблетки на приладі моделі TBT фірми «Ервека» (Німеччина). Маса таблетки складала 0,55 г.

Отримані таблетки досліджували за фармакотехнологічними характеристиками (табл. 2).

Результати досліджень за показником «розпадання» оцінювали відповідно до British Pharmacopoeia. 2011, враховуючи необхідність довготривалого перебування лікарського засобу в ротовій порожнині (до 30 хв). Отримані дані засвідчили, що таблетки складу 1, 2, 5 та 6 мали незадовільні результати за показником «стираність таблеток». За показником «стійкість таблеток до роздавлювання» отримали майже однакові результати. Лише склад № 3 та № 4 відповідали вимогам ДФУ за показниками «стираність таблеток», але склад № 4 мав незадовільний зовнішній вигляд (спостерігали шоркість), зумовлений надмірною кількістю зволожувача. Також варто

Таблиця 1

Експериментальні склади з різними зволожувачами

АФІ та допоміжні речовини, %	Склад 1	Склад 2	Склад 3	Склад 4	Склад 5	Склад 6
	5 % водний р-н ПВП	10 % водний р-н ПВП	15 % водний р-н ПВП	15 % водний р-н ПВП	15 % спирт. р-н ПВП	15 % спирт. р-н ПВП
Гліцин	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Триптофан	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Півонії екстракт сухий	13,64	13,64	13,64	13,64	13,64	13,64
Lactose GranuLac 200	21,93	20,82	17,82	16,52	14,96	16,67
МКЦ 102	14,36	14,36	14,36	14,36	14,36	14,36
ПВП (Plasdone K-25)	1,80	2,91	5,91	7,21	8,76	7,10
Кросповідон XL-10	6,36	6,36	6,36	6,36	6,36	6,36
Неусилін	4,55	4,55	4,55	4,55	4,55	4,55
Кальцію стеарат	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Разом	100	100	100	100	100	100

Таблиця 2

Фармакотехнологічні параметри таблеток

Параметри дослідження	Склад 1	Склад 2	Склад 3	Склад 4	Склад 5	Склад 6
Розпадання, хв	9 хв 23 с	12 хв 12 с	14 хв 15 с	15 хв 35 с	12 хв 20 с	11 хв 17 с
Стійкість таблеток до роздавлювання, Н	91 ± 2,0	128 ± 1,0	130 ± 2,0	134 ± 2,0	124 ± 1,0	95 ± 1,0
Стіраність таблеток, %	1,31 ± 0,04	1,35 ± 0,02	0,63 ± 0,03	0,75 ± 0,03	1,18 ± 0,04	1,23 ± 0,04

Таблиця 3

Фармакотехнологічні параметри таблеток з ГПМЦ

Параметри дослідження	Склад 1	Склад 2
Розпадання, хв	37 хв 23 с	25 хв 15 с
Стійкість таблеток до роздавлювання, Н	130 ± 2	195 ± 1
Стіраність таблеток, %	0,13 ± 0,02	0,06 ± 0,01

зауважити, що роздільне гранулювання (склад № 6) не вплинуло на показники якості таблеток, тому немає сенсу його використовувати в цьому випадку. Отже, для подальших досліджень використовували склад № 3.

Час перебування лікарського засобу в контакт з слизовою оболонкою значною мірою визначає ефективність його всмоктування. Цей показник залежить як від інтенсивності виділення слини в ротовій порожнині, так і від особливостей лікарської форми. Передчасне проковтування знижує ефективність лікарського засобу. Одним зі шляхів покращення біодоступності таблеток, що розчиняються в ротовій порожнині, є збільшення мукоадгезії. Мукоадгезія – це здатність деяких матеріалів прилипати до поверхні слизових тканин людини.

Наступні дослідження було спрямовано на обрання мукоадгезиву. Згідно з аналізом літератури, у складі таблеток як мукоадгезиви найчастіше використовують такі речовини, як: карбопол, ГЕЦ, натрій-КМЦ, ГПМЦ, натрій альгінат, хітозан, ксантанова камедь [7-9]. Для розробки сублінгвальних таблеток як мукоадгезив ми обрали ГПМЦ в концентрації 2 % [10]. Його перевагою є те, що ГПМЦ забезпечує контрольоване вивільнення лікарського засобу та пролонгує терапевтичний ефект [11-13]. Було виготовлено два зразки: з вмістом НРМС methocel E4M CR Premium (склад № 1) та НРМС methocel K4M CR Premium (склад № 2). Результати досліджень наведено в табл. 3.

З табл. 3 видно, що склад № 1 за показником «розпадання» не відповідає критеріям ВР [3], а склад № 2 за всіма показниками має задовільні результати.

Під час створення лікарських препаратів у вигляді сублінгвальних таблеток велику увагу надають

їхнім смаковим властивостям. Добір допоміжних речовин, здатних замаскувати, зменшити або усунути неприємний смак, що притаманний основним або допоміжним речовинам, є пріоритетним завданням.

У результаті попередніх досліджень з'ясовано, що таблетки мають гіркий смак, зумовлений наявністю триптофану та екстракту півонії. Тому необхідно було обрати допоміжні речовини, здатні замаскувати неприємний смак. З цією метою ми використовували різноманітні коригенти смаку та запаху. Як підсолоджувач до складу зразків вводили аспартам, сорбіт, мальтодекстрин та сукралозу в концентрації 2 %, які, за даними літератури, є найбільш поширеними у складі таблеток [14]. Склад зразків наведено в табл. 4.

Серед отриманих композицій кращі смакові властивості мали зразки з аспартамом, але відчувався гіркий присмак. Кількість коригенту було збільшено до 5 %, але повністю замаскувати гіркий смак не вдалося. Смакові властивості зразків оцінювали за методиками О. І. Тенцової та І. А. Єгорова (табл. 5 та 6).

За результатами досліджень повністю замаскувати неприємний смак не вдалося, тому було виготовлено зразки, що додатково містили коригенти смаку та запаху Mint cloroph, Strawberry та Apple (табл. 7).

Таблиця 4

Склад дослідних зразків з різними коригентами смаку

Склад, %	1	2	3	4	5
Гліцин	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Триптофан	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Півонії екстракт сухий	13,64	13,64	13,64	13,64	13,64
Lactose GranuLac 200	13,82	13,82	13,82	13,82	10,82
МКЦ 102	14,36	14,36	14,36	14,36	14,36
HPMC methocel K4M CR Premium	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Аспартам	2,00	-	-	-	5,00
Мальтодекстрин	-	2,00	-	-	-
Сорбіт	-	-	2,00	-	-
Сукралоза	-	-	-	2,00	-
ПВП (Plasdone K-25)	5,91	5,91	5,91	5,91	5,91
Кросповідон XL-10	6,36	6,36	6,36	6,36	6,36
Неусилін	4,55	4,55	4,55	4,55	4,55
Кальцію стеарат	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Разом	100	100	100	100	100

Таблиця 5

Оцінка коригентів смаку
за методикою О. І. Тенцової

Склад зразка, №	Значення числового індексу	
	відчуття основного смаку	оцінка емоційних відчуттів
1	2,65 ± 0,12	2,55 ± 0,11
2	2,10 ± 0,10	1,90 ± 0,11
3	1,90 ± 0,10	1,80 ± 0,12
4	2,30 ± 0,10	2,15 ± 0,11
5	3,15 ± 0,12	3,10 ± 0,10

Таблиця 6

Оцінка коригентів смаку
за методикою І. А. Єгорова

Склад зразка, №	Смакова панель	
	формула смаку	загальний смак
1	ГЗОЗ	гіркий, солодкий
2	ГЗО2	гіркий, слабо солодкий
3	ГЗО2	гіркий, слабо солодкий
4	ГЗО2	гіркий, солодкий
5	ГЗОЗ	слабо гіркий, солодкий

Таблиця 7

Склад дослідних зразків з коригентами смаку та запаху

Склад, %	6	7	8	9	10
Гліцин	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Триптофан	18,18	18,18	18,18	18,18	18,18
Півонії екстракт сухий	13,64	13,64	13,64	13,64	13,64
Lactose GranuLac 200	10,31	9,82	9,31	9,82	9,82
МКЦ 102	14,36	14,36	14,36	14,36	14,36
HPMC methocel K4M CR Premium	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Аспартам	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Мальтодекстрин	-	-	-	-	-
Сорбіт	-	-	-	-	-
Сукралоза	-	-	-	-	-
Mint cloroph	0,50	1,00	1,50	-	-
Strawberry	-	-	-	1,00	-
Apple	-	-	-	-	1,00
ПВП (Plasdone K-25)	5,91	5,91	5,91	5,91	5,91
Кросповідон XL-10	6,36	6,36	6,36	6,36	6,36
Неусилін	4,55	4,55	4,55	4,55	4,55
Кальцію стеарат	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Разом	100	100	100	100	100

Таблиця 8

Оцінка коригентів смаку та запаху
за методикою О. І. Тенцової

Склад зразка, №	Значення числового індексу	
	відчуття основного смаку	оцінка емоційних відчуттів
6	3,35 ± 0,12	3,30 ± 0,12
7	4,05 ± 0,11	3,95 ± 0,10
8	3,75 ± 0,10	3,60 ± 0,12
9	2,85 ± 0,12	2,80 ± 0,10
10	2,75 ± 0,12	2,65 ± 0,11

Таблиця 9

Оцінка коригентів смаку та запаху
за методикою І. А. Єгорова

Склад зразка, №	Смакова панель	
	формула смаку	загальний смак
6	ГЗОЗ	гіркий, солодкий
7	Г2ОЗ	слабо гіркий, солодкий
8	ГЗО2	гіркий, слабо солодкий
9	ГЗОЗ	гіркий, солодкий
10	ГЗОЗ	гіркий, солодкий

Смакові властивості зразків також оцінювали за допомогою методик О. І. Тенцової та І. А. Єгорова (табл. 8 та 9).

З'ясовано, що таблетки, які містили Mint cloroph у концентрації 0,5 %, мали гіркий присмак. Найкращі смакові властивості виявив зразок, який містив 1 % Mint cloroph. Для порівняння використовували коригенти смаку Strawberry та Apple у концентрації 1 %, але вони суттєво не вплинули на смакові властивості. Аналізуючи дані табл. 8, бачимо, що найкращі смакові відчуття дає композиція № 7 (4,05). Респонденти відчували приємний післясмак, на відміну від гірко-го післясмаку інших композицій.

Порівняльний аналіз композицій «смакової карти» І. А. Єгорова (табл. 9) засвідчив, що найбільш приємним смаком володіє дослідний зразок № 7 (слабо гіркий, солодкий).

Отже, проведені дослідження дозволили обрати коригенти, які маскували гіркий смак сублінгвальних таблеток і надавали їм приємного солодкого та

«свіжого» присмаку й аромату. На підставі проведених досліджень до складу введено аспартам у концентрації 5 % від маси таблетки та Mint cloroph 1 % (композиція № 7).

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Обрано метод вологої грануляції для таблеток з L-триптофаном, гліцином та півонії екстрактом сухим, до складу яких як зв'язувальну речовину уведено 15 % водний розчин полівінілпіролідону (Plasdone K-25).

2. Для покращення біодоступності АФІ до композиції додано мукоадгезив – HPMC methocel K4M CR Premium у концентрації 2 %.

3. Для маскування гірко-го присмаку АФІ запропоновано увести до складу сублінгвальних таблеток коригенти смаку та запаху. Як коригенти смаку та запаху обрано 5 % аспартаму та 1 % Mint cloroph.

Перспективою подальших досліджень є обґрунтування технологічних параметрів виробництва.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
- Makwana S., Kharadi R. A review on sublingual formulation. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2018. Vol. 7 (9). P. 1300-1306.
- The British Pharmacopoeia 2011. 1th ed. London : HMSO, 2010. Vol. 3. 3326 p.
- Методические указания по обработке результатов эксперимента по технологии лекарств / А. И. Тенцова и др. Ташкент : НИИ «Узгипрозем», 1980. 71 с.
- Дослідження фізико-хімічних та фармакотехнологічних показників L-триптофану, гліцину та сухого екстракту півонії при розробці таблеток сублінгвальних / І. Давидова та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2023. № 1. С. 100-106.
- Kurakula M., Koteswara Rao G. S. N. Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020. Vol. 60. P. 1-24. DOI: <https://10.1016/j.jddst.2020.102046>.
- Сучасний стан створення, виробництва та дослідження таблетованих лікарських засобів. Повідомл. 17. Мукоадгезійні таблетки: характеристика лікарської форми, вимоги, підходи до розробки, дослідження таблеток, підбір допоміжних речовин / О. І. Гордієнко та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 1. С. 126-133.
- The Preparation and Evaluation of Cyanocobalamin Mucoadhesive Sublingual Tablets / A. Ma'ali et al. *Pharmaceuticals*. 2023. Vol. 16. P. 1412. DOI: <https://10.3390/ph16101412>.
- Sublingual protein delivery by a mucoadhesive patch made of natural polymers / A. Paris et al. *Acta Biomaterialia*. 2021. Vol. 128. P. 222-235.
- Srisuntorn P., Bhalang K., Arirachakaran P. HPMC Based Mucoadhesive for Delivery of Triamcinolone Acetonide: Mucoadhesion and Drug Release Properties, An In Vitro Study. *J. Dent. Assoc. Thai*. 2018. Vol. 68 (2). P. 121-131. DOI: <https://10.14456/jdat.2018.17>.
- Mucoadhesive Tablets for Controlled Release of Acyclovir / R. Ruiz-Caro et al. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2012. Vol. 60 (10). P. 1249-1257. DOI: 10.1248/cpb.c12-00324.
- Chakraborti C. K., Sahoo S., Behera P. K. Role of different biodegradable polymers on the permeability of ciprofloxacin. *J. Adv. Pharm. Technol. Res*. 2014. Vol. 5 (3). P. 140-146. DOI: <https://10.4103/2231-4040.137434>.

13. Chowdary Y. A., Raparla R., Madhuri M. Formulation and Evaluation of Multilayered Tablets of Pioglitazone Hydrochloride and Metformin Hydrochloride. *J. Pharm. (Cairo)*. 2014. Vol. 12. P. 848243. DOI: <https://10.1155/2014/848243>.
14. Технологія ліків промислового виробництва : підруч. для студентів вищ. навч. закл. : в 2-х ч. / В. І. Чуєшов та ін. 2-ге вид., перероб. і допов. Харків : НФаУ : Оригінал, 2012. Ч. 1. 694 с.

REFERENCES

1. DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». (2015). *Derzhavna farmakopeia Ukrainy: v 3 t.* (2-he vyd.). Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv».
2. Makwana, S., Kharadi R. (2018). A review on sublingual formulation. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 7 (9), 1300-1306.
3. *The British Pharmacopoeia 2011*. (2010). (1th ed.). (Vol. 3). London: HMSO.
4. Metodicheskie ukazaniya po obrabotke rezultatov eksperimenta po tehnologii lekarstv / A. I. Tencova, T. A. Groshoviy, V. A. Golovkin, S. M. Mahkamov. – Tashkent: NII «Uzgirozem», 1980. – 71.
5. Davydova, I., Ruban, O., Slipchenko, H., Kovalevska, I. (2023). Doslidzhennia fizyko-khimichnykh ta farmakotekhnolohichnykh pokaznykiv L–tryptofanu, hlitsynu ta sukhoho ekstraktu pivonii pry rozrobtsi tabletok sublinhvalnykh. *Fitoterapiia. Chasopys*, 1, 100-106.
6. Kurakula, M., Koteswara, Rao G. S. N. (2020). Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 1-24. doi: <https://10.1016/j.jddst.2020.102046>.
7. Hordiienko, O. I., Vronska, L. V., Melnyk, O. A., Hroshoviy, T. A. (2015). Suchasnyi stan stvorennia, vyrobnytstva ta doslidzhennia tabletovanykh likarskykh zasobiv. Povidoml. 17. Mukoadheziini tabletky: kharakterystyka likarskoi formy, vymohy, pidkhody do rozrobky, doslidzhennia tabletok, pidbir dopomizhnykh rechovyn. *Farmatsevtichnyi chasopys*, 1, 126-133.
8. Ma'ali, A., Naseef, H., Qurt, M., Abukhalil, A. D., Rabba, A. K., Sabri, I. (2023). The Preparation and Evaluation of Cyanocobalamin Mucoadhesive Sublingual Tablets. *Pharmaceuticals*, 16, 1412. doi: <https://10.3390/ph16101412>.
9. Paris, A., Caridade, S., Colomb, E., Bellina, M., Boucard, E., Verrier, B., Monge, C. (2021). Sublingual protein delivery by a mucoadhesive patch made of natural polymers. *Acta Biomaterialia*, 128, 222-235.
10. Srisuntorn, P., Bhalang, K., Arirachakaran, P. (2018). HPMC Based Mucoadhesive for Delivery of Triamcinolone Acetonide: Mucoadhesion and Drug Release Properties, An In Vitro Study. *J. Dent. Assoc Thai*, 68 (2), 121-131. doi: <https://10.14456/jdat.2018.17>.
11. Ruiz-Caro, R., Gago-Guillan, M., Otero-Espinar, F., Dolores, Veiga M. (2012). Mucoadhesive Tablets for Controlled Release of Acyclovir. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 60 (10), 1249-1257. doi: 10.1248/cpb.c12-00324.
12. Chakraborti, C. K., Sahoo, S., Behera, P. K. (2014). Role of different biodegradable polymers on the permeability of ciprofloxacin. *J. Adv. Pharm. Technol. Res*, 5 (3), 140-146. doi: <https://10.4103/2231-4040.137434>.
13. Chowdary, Y. A., Raparla, R., Madhuri, M. (2014). Formulation and Evaluation of Multilayered Tablets of Pioglitazone Hydrochloride and Metformin Hydrochloride. *J. Pharm. (Cairo)*, 12, 848243. doi: <https://10.1155/2014/848243>.
14. Chuieshov, V. I., Hladukh, Ye. V., Saiko, I. V., Liapunova, O. O., Sichkar, A. A., Krutskykh, T. V., Ruban, O. A. (2012). Tekhnolohiia likiv promyslovoho vyrobnytstva: pidruch. dla studentiv VNZ (2-he vyd.). (Ch. 1). Kharkiv: NFAU: Oryhinal.

Відомості про авторів:

Давидова І. О., здобувачка третього освітньо-наукового рівня кафедри заводської технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: irinapavlockaya@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4889-187X>
Рубан О. А., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри заводської технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: Ruban_elen@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2456-8210>
Сліпченко Г. Д., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри заводської технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: galinaslipchenko@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5494-335X>
Зупанець І. В., доктор філософії, інженер-технолог, департамент Досліджень та розробки, АТ «Фармак», Київ, Україна. E-mail: ivzupanets@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8762-0098>
Іванюк О. І., доктор філософії, асистентка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: alyonarub@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7103-8423>

Information about authors:

Davydova I. O., PhD student of the Department of Industrial Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: irinapavlockaya@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4889-187X>
Ruban O. A., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Industrial Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: Ruban_elen@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2456-8210>
Slipchenko H. D., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Industrial Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: galinaslipchenko@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5494-335X>
Zupanets I. V., PhD, process engineer of the R&D Department, JSC "Farmak", Kyiv, Ukraine. E-mail: ivzupanets@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8762-0098>
Ivaniuk O. I., PhD, teaching assistant of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: alyonarub@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7103-8423>

Надійшла до редакції 21.03.2024 р.

О. Д. Мацюк¹, С. В. Олійник², С. С. Зуйкіна², М. В. Буряк²,
Т. М. Ковальова², Л. А. Боднар²

¹ Фаховий медичний коледж Комунального закладу вищої освіти
«Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради, Україна

² Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Розробка технології густого екстракту для лікування хейліту

Мета роботи – обґрунтувати параметри технологічного процесу отримання водного густого екстракту на основі лікарської рослинної сировини для терапії хейліту.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були експериментальні зразки фітокомплексу (лопуха великого корені, дуба звичайного кора, нагідок лікарських квітки у співвідношенні 5 : 1 : 1,5 відповідно) та водного густого екстракту, отриманого на його основі. Для розробки технології отримання густого екстракту та його стандартизації використано органолептичні, фізико-хімічні та фармакотехнологічні методи дослідження згідно з рекомендаціями, наведеними в ДФУ 2.0. Результати досліджень статистично обробляли відповідно до вимог ДФУ 2.3 ст. 5.3.

Результати та їх обговорення. Експериментально досліджено фармакотехнологічні властивості фітокомплексу для профілактики та лікування хейліту – лопуха великого корені, дуба кора, нагідок лікарських квітки у співвідношенні 5 : 1 : 1,5 відповідно. Визначено оптимальні умови екстракції збору водою очищеною: температура 95-100 °С; метод триступеневої ремацерації; із загальним співвідношенням сировина : готовий екстракт (1 : 10). Опрацьовано технологічні параметри та розроблено технологічну схему процесу отримання проміжного продукту – водного екстракту густого під умовною назвою «Фітол».

Висновки. На основі виконаних досліджень визначено технологічні параметри проведення процесу екстрагування для запропонованого фітокомплексу, обґрунтовано постадійно технологію отримання водного густого екстракту та складено її технологічну схему.

Ключові слова: технологія; густий екстракт; лікарська рослинна сировина; хейліт

K. D. Matsiuk¹, S. V. Oliinyk², S. S. Zuykina², L. A. Bodnar², M. V. Buryak², T. M. Kovalyova²

¹ Specialized Medical College of the Communal Institution of Higher Education "Rivne Medical Academy"

² National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The development of the technology of a thick extract for the treatment of cheilitis

Aim. To substantiate the parameters of the technological process for obtaining an aqueous thick extract based on the medicinal plant raw material for the treatment of cheilitis.

Materials and methods. The study objects were experimental samples of a phytocomplex (large burdock root: oak bark: pot marigold flower buds 5: 1: 1.5) and an aqueous thick extract obtained on its basis. During the development of the technology for obtaining a thick extract and its standardization, organoleptic, physicochemical and pharmacotechnological research methods were used in accordance with the methods and recommendations given in the SPPhU 2.0. The results of the research were statistically processed in accordance with the requirements of monograph 5.3 of the SPPhU 2.3.

Results. The pharmacotechnological properties of the phytocomplex for the prevention and treatment of cheilitis – large burdock root: oak bark: pot marigold flower buds (5: 1: 1.5, respectively) were experimentally studied. The optimal conditions for extraction of the complex with purified water were determined; they were: temperature – 95-100 °C; three-stage remaceration method; the total ratio of the raw material: finished extract (1:10). The technological parameters were worked out; the technological flowsheet of the process for obtaining an intermediate product – an aqueous thick extract under the conditional name "Phytol" was developed.

Conclusions. Based on the studies conducted, the technological parameters of the extraction process for the phytocomplex proposed have been determined; the technology for obtaining an aqueous thick extract has been substantiated step-by-step, and its technological flowsheet has been drawn up.

Key words: technology; thick extract; medicinal plant raw material; cheilitis

Вступ. Хейліт – запалення тканин губ: шкіри, червоної кайми, слизової оболонки. Майже кожній людині знайомі неприємні відчуття біля рота, що супроводжуються появою шкірок, тріщин, сухості на губах. У простонародді такий стан називають «заїдами». Захворювання може мати тривалий перебіг, викликати фізичний, естетичний дискомфорт. У молодих людей із міцною імунною системою прогноз на вилікування сприятливий. У літньому віці рецидивний хейліт збільшує ризик зловкісного переродження ушкоджених структур [1-3].

Асортимент топічних м'яких лікарських засобів для лікування хейліту переважно складають захисні препарати, що сприяють загоюванню уражень шкіри, на основі цинку оксиду, саліцилової кислоти, декспантенолу, метилурацилу, суміші вуглеводнів та жирів, протеолітичних ферментів тощо. Також на фармацевтичному ринку є препарати на основі сировини природного походження: прополіс, витяжки з лікарської рослинної сировини (каланхое, живокосту, нагідок та ін.). Хейліт характеризується мультисимптомністю, тому для його лікування рекомендовано

застосовувати багатокомпонентні засоби, що проявляють комплексну дію (протинаябрякову, протизапальну) та сприяють репаративній регенерації тканин [4-6].

У попередніх дослідженнях з метою створення фітозасобу комплексної дії для фармакотерапії хейліту обґрунтовано склад багатокомпонентного екстракту (лопуха великого корені, дуба звичайного кора, нагідок лікарських квітки у співвідношенні 5 : 1 : 1,5 відповідно), який проявляє антибактеріальну, антифунгальну, протизапальну дії та стимулює регенерацію тканин і процеси епітелізації [7].

Екстракти (Extraction – витяжка) – це концентровані витяжки з лікарської рослинної сировини (ЛРС), отримані шляхом екстрагування, які залежно від консистенції бувають рідкі, густі (вологи не більше 25 %) і сухі (вологи не більше 5 %). Це офіційна лікарська форма, яку одержують методами мацерації, перколяції, реперколяції, протитечійної і циркуляторної екстракції [8].

Вибір оптимального методу екстракції залежить від максимального виснаження ЛРС, швидкості, простоти, економічності та відтворюваності процесу, а також від природи та кількості біологічно активних речовин (БАР), які містить ЛРС. Своєю чергою вміст БАР залежить від використовуваної ЛРС, екстрагента й часу екстрагування [8, 9].

Для отримання екстрактів як екстрагент використовують воду очищену, етанол різної концентрації, органічні розчинники, жирні олії та ін., іноді з додаванням кислот, лугів, гліцерину, хлороформу тощо.

ЛРС у складі запропонованого фітокомплексу містить широкий спектр водорозчинних БАР. Вода очищена як екстрагент добре проникає крізь клітинні оболонки рослинної сировини й краще за інші розчинники розчиняє та витягує водорозчинні БАР. Проти органічних розчинників вода очищена є дешевшим екстрагентом, тому застосування її під час екстракції БАР дозволяє знизити експлуатаційні витрати. Крім того, використання води очищеної як екстрагента становить відносно меншу екологічну небезпеку [9].

З огляду на сказане вище розробка технології отримання багатокомпонентного екстракту комплексної дії для фармакотерапії хейліту постає актуальним завданням для фармацевтичної практики.

Мета роботи – обґрунтувати параметри технологічного процесу отримання екстракту на основі ЛРС для лікування хейліту.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були експериментальні зразки фітокомплексу (лопуха великого корені, дуба звичайного кора, нагідок лікарських квітки у співвідношенні 5 : 1 : 1,5) та водного густого екстракту, отриманого на його основі.

Вологість сировини фітокомплексу визначали згідно з вимогами ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.2.32 [10].

Витяжку отримували шляхом екстрагування сировини фітокомплексу водою очищеною протягом 8 год, коефіцієнт поглинання (K_n) ЛРС визначали як різницю між об'ємом використаного екстрагента й об'ємом отриманої витяжки.

Показник набухання (K_n) визначали відповідно до вимог ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.8.4, за методикою монографії «Показник набухання» [10]. Середнє значення коефіцієнта набухання фітокомплексу після 8 год настоювання становить 3,31.

Показник загальної золи сировини фітокомплексу визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.4.16 [10].

Для визначення об'єму, який займатиме ЛРС у перколяторі після набухання, об'єму екстрагента, що залишається в шроті після зливання екстракту, об'єму екстрагента, необхідного для отримання відповідної кількості витяжки, використовували лабораторний перколятор (об'єм – 1,9 дм³, діаметр – 90 мм, висота – 300 мм). Маса ЛРС, завантаженої в перколятор, становила 0,3 кг.

Об'єм, що займає ЛРС у перколяторі, розраховували за формулою:

$$V_{\text{сир.перк.}} = M / \rho_{\text{нас.}}$$

де: $V_{\text{сир.перк.}}$ – об'єм, який займатиме сировина в перколяторі після набухання, мл;

M – маса завантаженої сировини в перколяторі, г;

$\rho_{\text{нас.}}$ – насипна густина сировини, г / мл.

Об'єм ЛРС у перколяторі становить: $V_{\text{сир.перк.}} = 0,3 / 0,241 = 1,24$ л.

Для отримання дзеркала над сировиною фітокомплексу в перколяторі в загальній кількості екстрагента, окрім об'ємів, поглинутих ЛРС та витрачених на її змочування, визначали об'єм екстрагента, необхідного для отримання відповідної кількості витяжки до співвідношення сировина : готовий екстракт, за формулою:

$$V_{\text{дзеркала}} = \pi \cdot r^2 \cdot h,$$

де: V – об'єм екстрагента для отримання дзеркала заввишки 50 мм;

r – радіус перколятора;

h – висота дзеркала над шаром сировини.

Об'єм екстрагента над сировиною становить: $V_{\text{дзеркала}} = 3,14 \cdot 45^2 \cdot 50 = 0,32$ л.

Об'єм екстрагента, що залишається в шроті після зливання екстракту, розраховували за формулою:

$$V_{\text{екс.шр.}} = M \cdot K_n,$$

де: $V_{\text{екс.шр.}}$ – об'єм екстрагента, що залишається в шроті після зливання екстракту, мл;

M – маса завантаженої в перколятор сировини фітокомплексу, г;

K_n – коефіцієнт поглинання сировини фітокомплексу.

Шукана величина дорівнює: $V_{\text{екс.шр.}} = 0,3 \cdot 2,15 = 0,645$ л.

Коефіцієнт поглинання інтегровано в показник набухання сировини, тому визначений об'єм, поглинутий сировиною, не впливає на розрахунок кількості екстрагента, потрібного для заповнення перколятора. Загальний об'єм екстрагента становить: $V_{\text{екстр.}} = M \cdot K_n + V_{\text{дзеркала}} = 0,3 \cdot 3,45 + 0,32 = 1,36$ л.

Результати та їх обговорення. Ефективність екстрагування БАР з ЛРС залежить від екстрагента

Таблиця 1

Ситовий аналіз ЛРС

Розмір частинок фракцій, мм	Фракційний склад подрібненої ЛРС, %		
	кора дуба звичайного	корені лопуха великого	квітки нагідок лікарських
7,0-5,0	3,13	3,90	2,23
5,0-3,5	10,44	4,94	4,58
3,5-2,0	37,39	36,43	15,38
2,0-1,0	33,76	27,14	20,32
1,0-0,6	7,50	15,63	21,29
0,6-0,16	5,45	9,24	30,27
Менше 0,16	2,33	2,62	5,26

та рослинної сировини. Основними показниками, що впливають на процес екстракції, є температура і час екстракції, вологість і ступінь подрібнення ЛРС, термодинамічні умови. Цей комплекс технологічних показників сприяє ефективності масообміну та збільшенню кількості вилучених БАР з ЛРС [11].

Ефективним методом збільшення ступеня та пришвидшення вилучення БАР є подрібнення ЛРС, адже одночасно з руйнуванням бар'єрів на шляху проникнення екстрагента до клітин сировини збільшується поверхня контакту ЛРС. З огляду на важливість цього показника було досліджено вплив ступеня подрібнення сировини на ефективність вилучення БАР для обґрунтування оптимальної дисперсності ЛРС [12]. Результати вивчення дисперсності фракційного складу ЛРС наведено в табл. 1.

Згідно з отриманими результатами близько 50 % кожного виду подрібненої ЛРС складають фракції з розміром частинок 3,5-0,16 мм. Тобто запропонований склад фітокомплексу є полідисперсним, але досить однорідним. Така характеристика сприятиме рівномірності процесу екстрагування БАР із ЛРС.

Через те що ЛРС досліджуваного фітокомплексу відрізняється за своєю гістологічною природою, доречним буде визначити такі технологічні властивості сировини, які можуть вплинути на ефективність процесу екстракції, а саме: насипний об'єм, насипна густина, здатність до зсідання, вміст вологи, коефіцієнт набухання сировини, коефіцієнт поглинання екстрагента (води очищеної), вміст екстрактивних речовин, загальна зола, плинність, кут природного укусу. Результати вивчення технологічних властивостей фітокомплексу наведено в табл. 2.

Результати досліджень засвідчили, що насипний об'єм фітокомплексу після зсідання зменшився майже на 20 %, а насипна густина фітокомплексу після зсідання збільшилась майже на 10 %.

Вибір екстрагента – важливий фактор ефективності процесу екстрагування, бо розчинник повинен мати здатність проникати крізь стінки клітини, розчиняти БАР, а також сприяти їх виходу за межі ЛРС [11]. У нашому випадку як оптимальний екстрагент для отримання густого екстракту із запропонованого фітокомплексу обрано воду очищену, тому що ЛРС у складі розроблюваного засобу містить більшість гідрофільних водорозчинних БАР

(полісахариди, дубильні речовини, фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, сапоніни) [13, 14].

З метою оптимізації процесу екстрагування було досліджено вплив таких технологічних параметрів: об'єм сировини фітокомплексу після набухання в перколяторі, об'єм екстрагента (води очищеної) в шроті після зливання екстракту, об'єм екстрагента (води очищеної), необхідний для отримання відповідної кількості витяжки до визначеного співвідношення сировина : готовий продукт. Результати розрахунків наведено в табл. 3.

Отже, досліджувана сировина фітокомплексу займає 65 % від загального об'єму перколятора, а визначені технологічні показники є якісними параметрами процесу екстракції, які не тільки дозволяють розрахувати критичні межі завантаження екстрактора, визначити кількість екстрагента, вибрати транспортувальні й дозувальні засоби, а і є необхідні для ефективного процесу отримання густого екстракту з розробленого фітокомплексу.

До традиційних методів екстракції належать пресування (гаряче і холодне), водно-парова екстракція та екстракція рідкими розчинниками. Відомими і широко вживаними методами екстрагування є мацерація

Таблиця 2

Технологічні властивості фітокомплексу

Параметри досліджень	Результати досліджень
Насипний об'єм до зсідання, V_0 , мл	145,00 ± 1,65
Насипний об'єм після зсідання, $V_{10\%}$, мл	138,20 ± 1,70
Насипний об'єм після зсідання, $V_{500\%}$, мл	125,40 ± 2,20
Насипний об'єм після зсідання, $V_{1250\%}$, мл	120,00 ± 2,10
Здатність до зсідання, $V_0 - V_{1250\%}$, мл	25,00
Насипна густина до зсідання, m / V_0 , г/мл	0,224 ± 0,04
Насипна густина після зсідання, $m / V_{1250\%}$, г/мл	0,241 ± 0,05
Вологість, %	8,50 ± 0,27
Коефіцієнт набухання (K_n) у воді Р	3,45 ± 0,11
Коефіцієнт поглинання (K_p) у воді Р	2,15 ± 0,06
Зола загальна, %	8,16 ± 0,13
Екстрактивні речовини, %	28,65 ± 0,27
Плинність, с/100 г	19,26 ± 0,51
Кут природного укусу	39,5 ± 0,7

Таблиця 3

Оптимальне співвідношення сировини фітокомплексу та води очищеної

Екстрагент	Маса сировини (М)	Насипна густина збору після зсідання ($\rho_{\text{нас.}}$)	Кн	Необхідна мінімальна кількість екстрагента (V)	Співвідношення сировина : екстрагент
Вода очищена	0,3 кг	0,241 г / см ³	3,45	1,36 л	1 : 4

і ремацерація. Для отримання густих і сухих екстрактів частіше застосовують ремацерацію [15].

Тому для подальших досліджень під час виготовлення дослідних зразків використано метод ремацерації у співвідношенні сировина : готовий екстракт (1 : 10). 300,0 г сировини запропонованого фітокомплексу вносять до перколятора, додають екстрагент (воду очищену) кімнатної температури з урахуванням коефіцієнта водопоглинання сировини й проводять екстрагування за температури 95-100 °С.

Щоб оцінити повноту процесу екстрагування, визначали вміст екстрактивних речовин у дослідному зразку та динаміку вилучення полісахаридів протягом 2 год з відбором проб кожні 15 хв (рис. 1).

Як видно з рис. 1, вміст екстрактивних речовин та полісахаридів у дослідному зразку поступово зростає перші 60 хв екстракції та досягає сталого значення через 1,5 год. Отже, оптимальний час екстрагування фітокомплексу – 90 хв.

Для забезпечення максимального виснаження ЛРС експериментальним шляхом визначали кількість ступенів екстракції з урахуванням таких критеріїв, як ефективність, час, витрати. Мінімальна кількість екстрагента для першого ступеня екстракції, що забезпечує отримання дзеркала над сировиною, становить 4 : 1, на наступних ступенях екстракції співвідношення можна зменшити до 2,5 : 1. Під час чотириразової ремацерації фітокомплексу (протягом 90 хв за температури 95-100 °С) визначили сухий залишок і вміст БАР (полісахаридів та флавоноїдів). Результати дослідження наведено в табл. 4.

Отримані результати засвідчили, що під час перших трьох ступенів екстракції відбувається інтенсивний вихід полісахаридів, флавоноїдів та екстрактивних речовин. Після четвертого ступеня екстракції вилучення БАР не є значні. Отже, триступенева ремацерація у співвідношенні сировина : готовий екстракт (1 : 10) є достатньою для максимального виснаження ЛРС фітокомплексу.

Для отримання густого екстракту водні витяжки об'єднують, відстоюють, фільтрують, після чого згущують до залишкової вологості 20-25 % на лабораторному роторно-плівковому випарювачі.

На основі проведених досліджень розроблено технологію отримання густого екстракту із запропонованого фітокомплексу під умовною назвою «Фітол». Технологічний процес складається з 6 стадій: підготовка рослинної сировини, приготування збору рослинної сировини, одержання водного екстракту, відстоювання та фільтрація водного екстракту, упарювання

Таблиця 4

Вміст БАР у водному екстракті залежно від ступеня екстракції

Показник	Ступінь екстракції			
	1	2	3	4
Екстрактивні речовини, %	3,63	1,42	0,95	0,31
Флавоноїди, %	0,09	0,06	0,05	0,01
Полісахариди, %	1,15	0,72	0,52	0,16

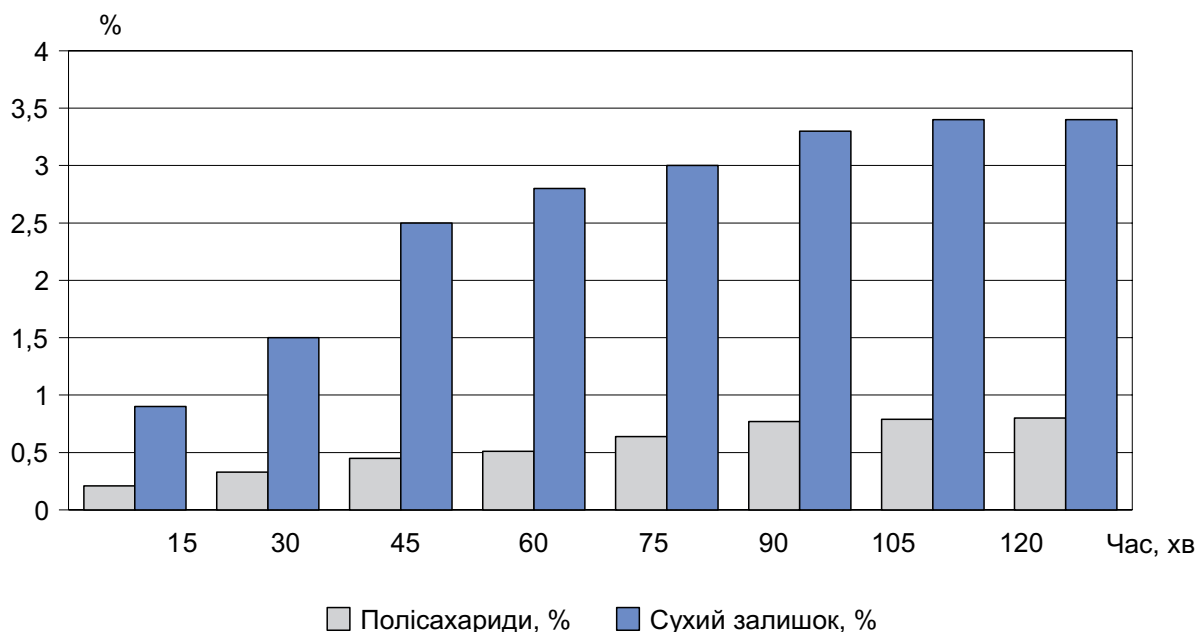


Рис. 1. Діаграми залежності вмісту полісахаридів та екстрактивних речовин у водному екстракті від часу екстрагування

водного екстракту, фасування, пакування та маркування густого екстракту. Технологічну схему отримання густого екстракту під умовною назвою «Фітол» наведено на рис. 2.

Підготовка рослинної сировини. Використовують ЛРС, що відповідає вимогам специфікації та пройшла попередній вхідний контроль. Подрібнюють ЛРС на млині роторному ножовому РМ-250 та центровому МЦ-1, після чого її знепилюють шляхом просіювання на віброситі з розміром отворів 0,16 мм.

Приготування збору рослинної сировини. Подрібнену ЛРС завантажують у змішувач і перемішують протягом (15 ± 5) хв зі швидкістю 20 об. / хв. Отриманий збір самопливом вивантажують у пересувні збірники.

Одержання водного екстракту. В екстрактор з паровою оболонкою завантажують рослинний збір. Для екстрагування використовують воду очищену, яку беруть з урахуванням коефіцієнта водопоглинання фітокомплексу. Сировину заливають водою очищеною до отримання дзеркала й екстрагують протягом

(90 ± 5) хв за температури $95-100^\circ\text{C}$. Після закінчення часу екстрагування через випускний кран відбору екстрактора зливають отриману витяжку в збірник.

Сировину, що залишилась в екстракторі, заливають другою частиною води очищеної та екстрагують з дотриманням вищезазначених параметрів. Після зливу отриманого водного екстракту сировину заливають третьою частиною води очищеної з урахуванням загального співвідношення сировина : готовий екстракт (1 : 10) та екстрагують з дотриманням вищезазначених параметрів. Після закінчення часу екстрагування через випускний кран відбору екстрактора зливають отриману витяжку в збірник. Визначають загальний об'єм водного екстракту. Після охолодження екстрактора шрот вивантажують і передають на утилізацію.

Відстоювання та фільтрація водного екстракту. Водний рідкий екстракт поміщають у ємність для відстоювання і витримують за температури $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 8-10 год. Після відстоювання екстракт фільтрують крізь нутч-фільтр патронного типу на основі

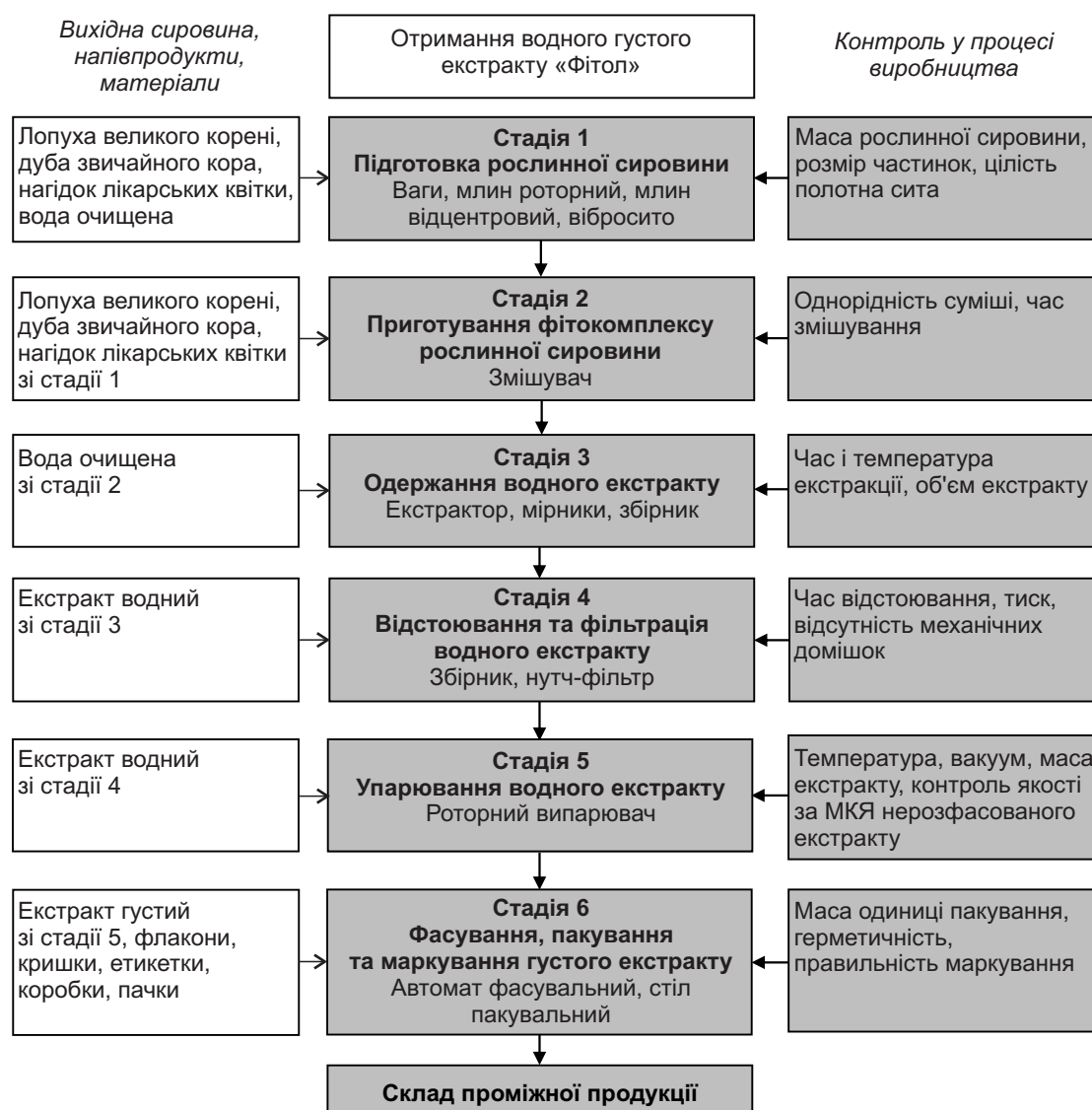


Рис. 2. Схема технологічного процесу отримання сумарного водного густого екстракту під умовною назвою «Фітол»

поліпропілену. Профільтрований екстракт зберігають у герметично закритих пластмасових збірниках.

Упарювання водного екстракту. Упарюють водний екстракт у роторному вакуум-випарному апараті за температури $(75 \pm 5)^\circ\text{C}$ за умови розрідження 0,8-0,7 МПа. Ступінь упарювання контролюють візуально за об'ємом конденсату води. Відбирають пробу профільтрованого густого екстракту та передають на контроль якості проміжного продукту.

Фасування, пакування та маркування густого екстракту. Фасують густий екстракт у широкогорлі контейнери, які щільно закривають на автоматичній лінії фасування. Упакований і промаркований густий екстракт під умовною назвою «Фітол» передають на склад проміжної продукції.

Отже, у результаті проведених досліджень розроблено технологію отримання водного густого

екстракту для лікування хейліту та складено технологічну схему.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Досліджено технологічні показники запропонованого фітокомплексу (корені лопуха великого, кора дуба звичайного, квітки нагідок лікарських). Визначено оптимальні умови процесу екстрагування фітокомплексу водою очищеною: температура – $95-100^\circ\text{C}$; час екстрагування – 90 хв, метод триступеневої ремацерації із загальним співвідношенням сировина : готовий екстракт (1 : 10). Розроблено технологічний процес та складено технологічну схему отримання проміжного продукту – водного густого екстракту на основі фітокомплексу. Подальша робота полягатиме в розробленні методик контролю якості отриманого проміжного продукту.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Clinical and pathogenetic aspects of various forms of cheilitis / I. M. Rabinovich et al. *Stomatologiya*. 2016. Vol. 95, № 1. P. 67-72. DOI: 10.17116/stomat201695167-72.
2. Diagnostic management of cheilitis: an approach based on a recent proposal for cheilitis classification / L. Lugović-Mihić et al. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*. 2020. Vol. 29, № 2. P. 67-72. DOI: 10.15570/actaapa.2020.16.
3. Matsiuk K., Vyshnevskaya L. Research on the development of emulsion ointment for the treatment of cheilitis. *Proceeding of the International Topkapi Congress* : The proceedings book, Turkey, March 15-16, 2023. Istanbul, 2023. P. 280.
4. Комpendіум 2021. Лікарські препарати України / за ред. В. М. Коваленка. Київ : Моріон, 2021. URL: <https://compendium.com.ua/> (дата звернення: 30.04.2024).
5. Romeo U., Rocchetti F., Montori A. Criticisms and Controversies in the Diagnosis of Cheilitis. *Proceedings*. 2019. Vol. 35, № 1. P. 8. DOI: 10.3390/proceedings2019035008.
6. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.kiev.ua> (дата звернення: 3.04.2024).
7. Мацюк О. Д., Вишневецька Л. І. Перспективність отримання фітосубстанцій з лопуха великого для розроблення лікарських препаратів на їх основі. *Хімія природних сполук* : матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 жовт. 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 56-57.
8. Фармацевтична енциклопедія : офіційний сайт. URL: <http://www.pharmacencyclopedia.com.ua> (дата звернення: 30.04.2024).
9. *Petroselinum crispum* on the growth of some enterobacteriaceae. *Journal of Al-Nahrain university*. 2014. Vol. 17, № 1. P. 148-154.
10. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2-ге допов. 2018. 336 с. ; 4-те допов. 2020. 600 с.
11. Дослідження впливу ступеня подрібнення та природи полярних розчинників на ефективність вилучення олій з рослинної сировини екстракційним методом / А. Р. Глуханюк та ін. *Chemistry, Technology and Application of Substances*. 2020. Vol. 3, № 1. P. 161-168.
12. Experimental research on the development of composition of complex action ointment based on phytocomplex / K. Matsiuk et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023. Vol. 44, № 4. P. 19-27.
13. Gowher G. Therapeutic value of *Arctium Lappa* Linn. – A review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2019. Vol. 12, № 7. P. 53-59. DOI: 10.22159/ajpcr.2019.v12i7.33870.
14. Morales D. Oak trees (*Quercus* spp.) as a source of extracts with biological activities: A narrative review. *Trends Food Sci. Technol*. 2021. Vol. 109. P. 116-125. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.01.029.
15. Подолянчук В. Екстрагування рослинної сировини різними способами та математичний опис процесу. *Природничі та гуманітарні науки. Актуальні питання* : матеріали II Міжнар. студ. наук.-техн. конф., м. Тернопіль, 25-26 квіт. 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 17-18.

REFERENCES

1. Rabinovich, I. M., Rabinovich, O. F., Abramova, E. S., Denisova, M. A. (2016). Clinical and pathogenetic aspects of various forms of cheilitis. *Stomatologiya*, 95 (1), 67-72. doi: 10.17116/stomat201695167-72.
2. Lugović-Mihić, L., Blagec, T., Japundžić, I., Skroza, N., Adžajić, M. D., Mravak-Stipetić, M. (2020). Diagnostic management of cheilitis: an approach based on a recent proposal for cheilitis classification. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*, 29 (2), 67-72. doi: 10.15570/actaapa.2020.16.
3. Matsiuk, K., Vyshnevskaya, L. (2023). Proceeding from Proceeding of the International Topkapi Congress: *The proceedings book (15-16 March 2023 r.)*. (p. 280). Istanbul.
4. Kovalenko, V. M. (Red.). (2021). *Kompendium 2021. Likarski preparaty Ukrainy*. Available at: <https://compendium.com.ua/>.
5. Romeo, U., Rocchetti, F., Montori, A. (2019). Criticisms and Controversies in the Diagnosis of Cheilitis. *Proceedings*, 35 (1), 8. doi: 10.3390/proceedings2019035008.

6. Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy. Available at: <http://www.drlz.kiev.ua>.
7. Matsiuk, O. D., Vyshnevskaya, L. I. (2022). Proceeding from Khimiia pryrodnykh spoluk: *materialy VI Vseukr. nauk.-prakt. konf. z mizhnar. uchastiu* (27-28 zhovtnia 2022 r.). (pp. 56-57). Ternopil.
8. Farmatsevtichna entsyklopediia: ofitsiyni sait. Available at: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua>.
9. Mohammad, M. H. (2014). Study the effect of cold and hot water extracts of parsley plant *Petroselinum crispum* on the growth of some enterobacteriaceae. *Journal of Al-Nahrain university*, 17 (1), 148-154.
10. DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». (2018, 2020). Derzhavna farmakopeia Ukrainy. (2-he vyd.). (dopov. 2, 4). Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv».
11. Hlukhaniuk, A. R., Kuzminchuk, T. A., Chyzhovych, R. A., Semenishyn, Ye. M., Ivashchuk, O. S. (2020). Doslidzhennia vplyvu stupenia podribnennia ta pryrody poliarnykh rozchynnykiv na efektyvnist vyluchennia olii z roslynnoi syrovyny ekstraktsiynym metodom. *Chemistry, Technology and Application of Substances*, 3 (1), 161-168.
12. Matsiuk, K., Kovalova, T., Maslii, Y., Kaliuzhnaia, O., Herbina N., Tkachuk, O. Vyshnevskaya, L. (2023). Experimental research on the development of composition of complex action ointment based on phytocomplex. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 44 (4), 19-27.
13. Gowher, G. (2019). Therapeutic value of *Arctium Lappa* Linn. – A review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12 (7), 53-59. doi: 10.22159/ajpcr.2019.v12i7.33870.
14. Morales, D. (2021). Oak trees (*Quercus* spp.) as a source of extracts with biological activities: A narrative review. *Trends Food Sci. Technol*, 109, 116-125. doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.029.
15. Podolianshchuk, V. (2019). Proceeding from Pryrodnychi ta humanitarni nauky. Aktualni pytannia: *materialy II Mizhnar. stud. nauk.-tekh. konf.* (25-26 kvitnia 2019 r.). (pp. 17-18). Ternopil.

Відомості про авторів:

Мацюк О. Д., доктор філософії, викладач, Фаховий медичний коледж Комунального закладу вищої освіти «Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради. E-mail: matsiukksenija@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6337-4796>
Олійник С. В., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: sveta_oleinik@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6638-3564>
Зуйкіна С. С., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7546-6062>
Буряк М. В., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: marinaburjak@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6671-9662>
Ковальова Т. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: tatyko72@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5984-6196>
Боднар Л. А., доктор філософії, асистент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: bodnar_la@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3268-0683>

Information about authors:

Matsiuk K. D., Doctor of Philosophy, teacher, Specialized Medical College of the Communal Institution of Higher Education "Rivne Medical Academy". E-mail: matsiukksenija@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6337-4796>
Oliinyk S. V., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: sveta_oleinik@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6638-3564>
Zuykina S. S., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7546-6062>
Buryak M. V., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: marinaburjak@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6671-9662>
Kovalyova T. M., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: tatyko72@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5984-6196>
Bodnar L. A., Doctor of Philosophy, teaching assistant of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: bodnar_la@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3268-0683>

Надійшла до редакції 27.09.2024 р.

Ю. С. Братішко, К. В. Семченко, В. М. Толочко, М. В. Зарічкова, Д. Р. Зоїдзе,
О. М. Должнікова

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного
університету Міністерства охорони здоров'я України

Організаційно-економічні дослідження обігу протигельмінтних лікарських засобів на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення

Мета роботи полягає в організаційно-економічних дослідженнях особливостей обігу протигельмінтних лікарських засобів (ЛЗ) на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення під впливом високих ризиків та невизначеностей.

Матеріали та методи базуються на інформації відкритого доступу для професійного використання лікарів і фармацевтів, матеріалах наукових публікацій і монографічних виданнях вітчизняних і зарубіжних науковців, результатах особистих досліджень з використанням Google forms. Для опитування було залучено 90 фахівців фармації (ФФ). Результати оброблено та з'ясовано їх достовірність за допомогою ліцензованих програмних продуктів Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення. Визначено перелік протигельмінтних ЛЗ, наявних сьогодні на вітчизняному фармацевтичному ринку. Окреслено організаційно-економічні особливості кожного з них – рівень попиту та вартісні показники. Виявлено, що протигельмінтних ЛЗ є 24 найменування, зокрема 11 на основі діючої речовини альбендазол, 7 на основі пірантелу, 2 на основі мебендазолу, 3 на основі левамизолу та фіточай на основі пижма квіток. До найбільш затребуваних протигельмінтних ЛЗ, рівень попиту на які перевищує 70,0 %, належать 7 найменувань. Визначено також певні особливості дій ФФ під час відпуску протигельмінтних ЛЗ із аптечних закладів, що можуть сприяти формуванню попиту на зазначені препарати.

Висновки. Результати проведеного дослідження дозволили з'ясувати особливості обігу протигельмінтних ЛЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення під впливом високих ризиків та невизначеностей. Визначено їх перелік, рівень попиту та вартісні показники, а також певні рекомендовані дії ФФ під час відпуску таких препаратів з аптечних закладів.

Ключові слова: організаційно-економічні дослідження; обіг; протигельмінтні ЛЗ; вартісні показники

Yu. S. Bratishko, K. V. Semchenko, V. M. Tolochko, M. V. Zarichkova, D. R. Zoidze,
O. M. Dolzhnikova

Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy
of the Ministry of Health of Ukraine

Organizational and economic studies of the turnover of anthelmintic drugs in the domestic pharmaceutical market in modern conditions

Aim. To conduct organizational and economic studies of the peculiarities of the turnover of anthelmintic drugs in the domestic pharmaceutical market in modern conditions under the influence of high risks and uncertainties.

Materials and methods are based on open access information for professional use by doctors and pharmacists, materials from scientific publications and monographic editions of domestic and foreign scientists, the results of personal research using Google forms. For the survey, 90 pharmacy specialists were involved as respondents. The results were processed and verified using licensed Microsoft Excel software products.

Results and discussion. The list of anthelmintic drugs, which are in circulation in the domestic pharmaceutical market in modern conditions, has been determined. The organizational and economic features of each of them, such as the level of demand and cost indicators, have been outlined. It has been found that there are 24 names of such anthelmintic drugs, including 11 based on the active substance albendazole, 7 based on pyrantel, 2 based on mebendazole, 3 based on levamisole and one herbal tea based on tansy flowers. The most popular anthelmintic drugs in modern conditions, the level of demand for which exceeds 70.0 % (7 items), have been determined. Certain features of the actions of pharmacy specialists when dispensing anthelmintic drugs from pharmacies, which can contribute to the formation of demand for them, have been studied, including 18 questions according to the respondents' rating.

Conclusions. The results of the study conducted have allowed determining the peculiarities of the turnover of anthelmintic drugs in the domestic pharmaceutical market in modern conditions under the influence of high risks and uncertainties. Their list, level of demand and cost indicators have been defined, as well as certain recommended actions of the pharmacy specialists when dispensing from pharmacies.

Key words: organizational and economic studies; turnover; anthelmintic drugs; cost indicators

Вступ. Останнім часом є тенденція до зростання частоти захворювань інвазійної етіології, зокрема захворювань на гельмінтози. Повною мірою це стосується України, особливо в умовах сьогодення під впливом додаткових ризиків для життя, коли є військовий стан, соціально-економічне зuboжіння населення, його підвищена міграція, а також експорт/імпорт різних товарів, насамперед продуктів харчування та напоїв.

Найпоширенішими гельмінтозами в Україні є ентеробіоз, аскаридоз, трихоцефальоз, токсокароз [1-4]. Також останнім часом зростає частота виникнення рідкісних видів гельмінтозів, наприклад, анкілостомозу [5].

Проблема гельмінтозів потребує комплексного підходу до вивчення особливостей діагностики, клінічних проявів, патогенезу і фармакотерапії, а також рівня захворюваності, який постійно змінюється. У дослідженнях велику увагу науковці приділяють створенню та впровадженню в практичну фармацію протигельмінтних ЛЗ [6, 7]. Такі препарати мають бути наявними на фармацевтичному ринку постійно, у достатній кількості. Для цього важливо в аптечних закладах своєчасно і правильно подавати замовлення на протигельмінтні ЛЗ з урахуванням їх обігу й певних організаційних та економічних характеристик. Проте сьогодні в Україні, в умовах високих ризиків і невизначеностей, досліджень особливостей обігу протигельмінтних ЛЗ немає. Зазначене й зумовило актуальність і мету нашої наукової розвідки.

Мета роботи полягає в організаційно-економічному дослідженні особливостей обігу протигельмінтних ЛЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку в сучасних умовах.

Матеріали та методи. Для досягнення мети застосовували наукові методи: абстрактно-логічний, синтезу, зіставлення, порівняння, анкетування, експертних оцінок, вибіркового спостереження. Використовували інформацію органів державної влади, матеріали наукових публікацій і монографічних видань вітчизняних і зарубіжних авторів, висліди особистих досліджень упродовж 2023-2024 рр. Обробляли результати та з'ясовували їх достовірність за допомогою ліцензованих програмних продуктів Microsoft Office.

Результати та їх обговорення. Під час дослідження спиралися на результати анонімного опитування фахівців фармації (ФФ) з використанням Google forms [8, 9]. Для цього було створено анкету для вивчення та експертного оцінювання особливостей обігу протигельмінтних ЛЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку в сучасних умовах під впливом високих ризиків та невизначеностей. Узгодженість думок респондентів визначали через сукупний індекс їхньої компетентності за ранговою шкалою від 1 до 0, орієнтувались, щоб індекс був не менше 0,5 [10, 11]. Загалом для опитування було залучено 90 осіб, серед яких 76 жінок (84,4 %) та 14 чоловіків (15,6 %); з повною вищою фармацевтичною освітою – 46,2 %, з повною середньою фармацевтичною освітою – 40,5 % (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл респондентів за освітою

Освіта	Кількість респондентів	
	абс.	%
Повна вища фармацевтична	42	46,2
Повна середня фармацевтична	36	40,5
Доктор філософії (PhD)	8	8,9
Інша	4	4,4
Разом	90	100,0

Таблиця 2

Розподіл респондентів за посадами в аптечних закладах

Посада	Кількість респондентів	
	абс.	%
Асистент фармацевта	38	42,2
Фармацевт	20	22,2
Керівна посада	16	17,8
Експерт з оцінки медичних технологій	2	2,2
Інші	14	15,6
Разом	90	100,0

Залучені респонденти обіймали різні посади в аптечних закладах (табл. 2). Усі вони були з достатнім загальним стажем і стажем за спеціальністю (табл. 3). Представляли аптечні заклади приватної форми власності – 78 (86,7 %), державної – 8 (8,9 %) та комунальної – 4 (4,4 %), що розташовані у міській – 78 (86,7 %) та сільській місцевості – 12 (13,4 %).

Дослідження проводили, зважаючи на АТС-класифікацію протигельмінтних ЛЗ, відповідно до якої розглядали препарати на основі альбендазолу (PO2C A03), пірантелу (PO2C CO1), мебендазолу (PO2C A01), левамізолу (PO2C EO1), пижма квіток (PO2C X10). Вивчали показники їх обігу на вітчизняному фармацевтичному ринку, попит на них в умовах сьогодення, цінні показники, а також питання, що виникають у покупців під час відпуску цих препаратів з аптечних закладів.

Таблиця 3

Розподіл респондентів за загальним та спеціальним стажем роботи

Стаж роботи	Кількість респондентів, які мають стаж			
	загальний		спеціальний	
	абс.	%	абс.	%
До 5 років	18	20,0	28	33,1
5-10 років	32	35,5	34	37,8
10-15 років	2	2,2	2	2,2
15-20 років	14	15,6	12	13,3
Понад 20 років	24	26,7	14	15,6
Разом	90	100,0	90	100,0

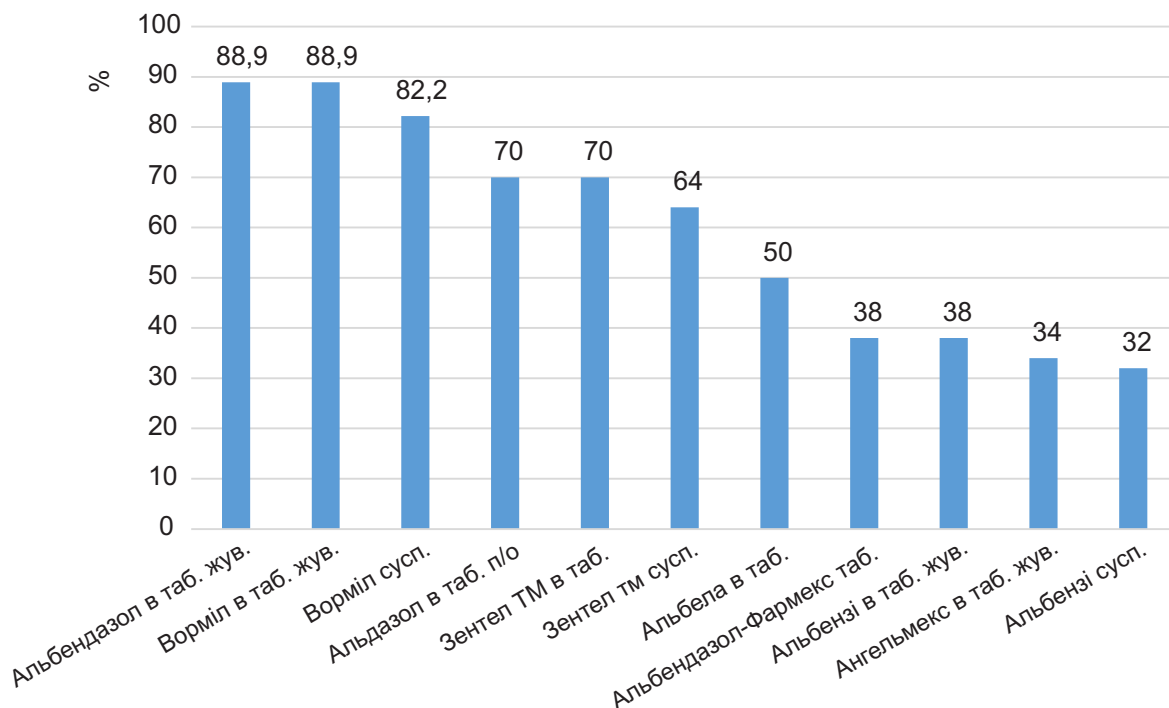


Рис. 1. Рівень попиту на протигельмінтні ЛЗ на основі альбендазолу (P02C A03)

Результати вивчення обігу протигельмінтних ЛЗ на основі альбендазолу наведено на рис. 1 і в табл. 4.

Як видно з наведених результатів, до цієї групи препаратів належать 11 найменувань. За попитом на першому місці Альбендазол у таб. жув. (88,9 %), середня ціна якого 94 грн. З'ясовано, що така ціна коливається в 52 випадках у бік збільшення (57,8 %) і лише в 36 випадках – у бік зменшення (40,0 %).

На такому ж рівні за попитом Ворміл у таб. жув. (88,9 %), а цінові показники його досить високі, пересічно 154 грн. Ці показники мають тенденцію до зростання у 36 випадках (40 %). Далі йде Ворміл сусп., попит на який сягає 82,2 %. Середня ціна цього препарату 130 грн, а фактична ціна в аптечних закладах має значну тенденцію до зростання в 62,2 % випадках.

Загалом можна зауважити, що ціна протигельмінтних ЛЗ на основі альбендазолу суттєво не впливає на

попит, пересічно коливається від 64 грн (Зентел ТМ у таб.) до 154 грн (Ворміл у таб. жув.) і має тенденцію до зростання (у 62,0 % випадків Ворміл сусп. і 40,0 % випадків Ворміл у таб. жув.). Найнижчий показник можливого зростання середньої ціни виявлено в Зентел ТМ сусп. – 28,9 % і Ворміл сусп. – 35,6 %.

Далі досліджували обіг протигельмінтних ЛЗ на основі пірантелу. З'ясовано, що на вітчизняному фармацевтичному ринку сьогодні в обігу 7 таких препаратів (рис. 2).

Із рис. 2 видно, що попит на такі препарати загалом коливається від 80,0 % до 31,1 %. Привертає увагу значний попит на Пірантел у таб. № 30 (80,0 %). Далі за рівнем попиту йдуть Пірантел сусп. (75,6 %) та Пірантел Польфарма сусп. (66,7 %). За ціною це досить вартісні ЛЗ (табл. 5).

Таблиця 4

Цінові показники протигельмінтних ЛЗ на основі альбендазолу (P02C A03)

Лікарські засоби	Середня вартість, грн	Випадки збільшення ціни		Випадки зменшення ціни	
		абс.	%	абс.	%
Альбендазол у таб. жув.	94	52	57,8	36	40,0
Ворміл у таб. жув.	154	36	40,0	36	40,0
Ворміл сусп.	130	56	62,2	32	35,6
Альдазол у таб. п/о	113	44	48,9	44	48,9
Зентел ТМ у таб.	64	52	57,8	36	40,0
Зентел ТМ сусп.	122	42	46,7	26	28,9
Альбела в таб.	106	42	46,7	46	51,1
Альбендазол-Фармекс таб.	82	46	51,1	42	46,7
Альбензі в таб. жув.	115	48	53,3	40	44,4
Ангельмекс у таб. жув.	84	54	60,0	34	57,8
Альбензі сусп.	119	44	48,9	44	48,9

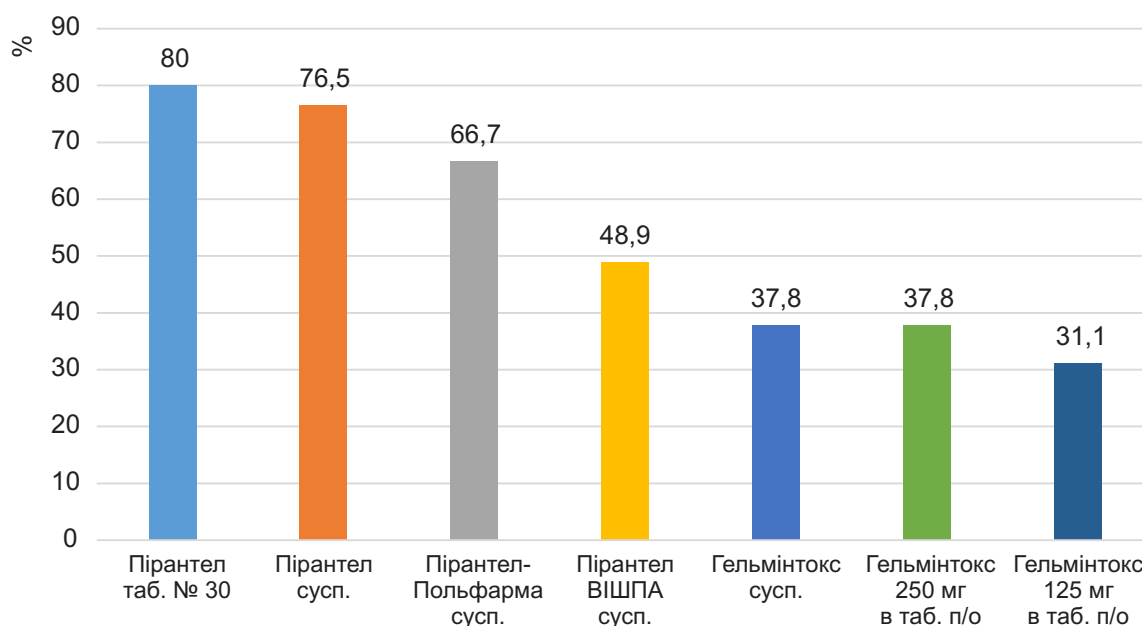


Рис. 2. Рівень попиту на протигельмінтні ЛЗ на основі пірантелу (P02C C01)

Таблиця 5

Цінові показники протигельмінтних ЛЗ на основі пірантелу (P02C C01)

Лікарські засоби	Середня вартість, грн	Випадки збільшення ціни		Випадки зменшення ціни	
		абс.	%	абс.	%
Пірантел у таб. №30	268	48	53,3	40	44,4
Пірантел сусп.	74	52	57,8	36	40,0
Пірантел Польфарма сусп.	88	46	51,1	42	46,7
Пірантел ВІШПА сусп.	80	46	51,1	42	46,7
Гельмінтокс сусп.	106	50	55,6	38	42,2
Гельмінтокс 250 мг в таб. п/о	82	46	51,1	42	46,7
Гельмінтокс 125 мг в таб. п/о	81	54	60,0	34	37,8

Так, Пірантел у таб. № 30 взагалі найдорожчий – середня ціна 268 грн, що має тенденцію до зростання в аптечних закладах у 53,3 % випадків. Гельмінтокс 125 мг таб. п/о має менший попит (31,1 %), але за середньою ціною досить доступний – 81 грн. А проте ціна цього препарату в аптечних закладах може зростати в 60,0 % випадків. Тобто можна підтвердити попередній висновок про те, що ціна не є головним чинником впливу на попит на протигельмінтні ЛЗ в аптечних закладах.

Далі з'ясовано, що серед протигельмінтних ЛЗ на основі мебендазолу (P02C A01) на вітчизняному фармацевтичному ринку в обігу є Вермокс у таб. і Вермокс ТМ у таб., на які досить високий попит – 80,0 % і 64,4 % відповідно (рис. 3).

За результатами наших спостережень, середня вартість Вермокс у таб. складає 121 грн, яка в різних аптечних закладах і в різних регіонах має однакову тенденцію як до зростання, так і до зменшення (у 48,9 % випадках). Середня ціна Вермокс ТМ у таб. – 98 грн, виявлено тенденцію до її зниження в аптечних закладах у 60,0 % випадків (табл. 6).

З'ясовано, що на вітчизняному фармацевтичному ринку сьогодні наявні протигельмінтні ЛЗ на основі левамізолу (P02C E01). Серед них: Декаріс 150 мг

в таб. (за оцінкою респондентів рівень попиту на них складає 77,8 %), Декаріс 50 мг в таб. (рівень попиту – 60,0 %) та Левамізол-Здоров'я в таб. (рівень попиту – 44,4 %) (рис. 4).

Це високовартісні ЛЗ, які в аптечних закладах мають тенденцію як до зростання ціни (у 51,1 % випадків), так і до її зниження (у 46,7 % випадків) (табл. 7).

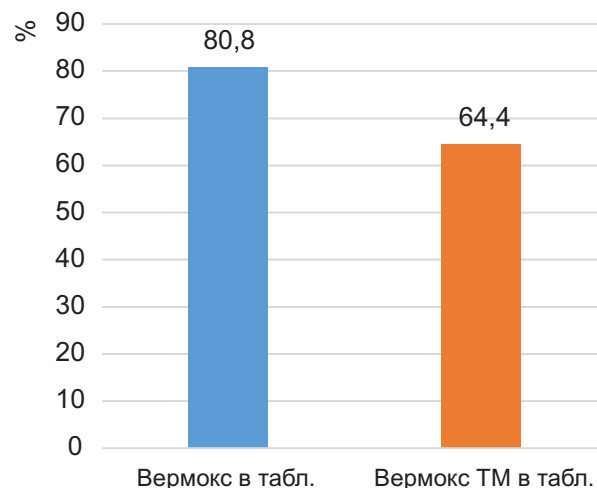


Рис. 3. Рівень попиту на протигельмінтні ЛЗ на основі мебендазолу (P02C A01)

Таблиця 6

Цінові показники протигельмінтних ЛЗ на основі мебендазолу (P02C A01)

Лікарські засоби	Середня вартість, грн	Випадки збільшення ціни		Випадки зменшення ціни	
		абс.	%	абс.	%
Вермокс в таб.	121	44	48,9	44	48,09
Вермокс ТМ в таб.	98	34	37,8	54	60,0

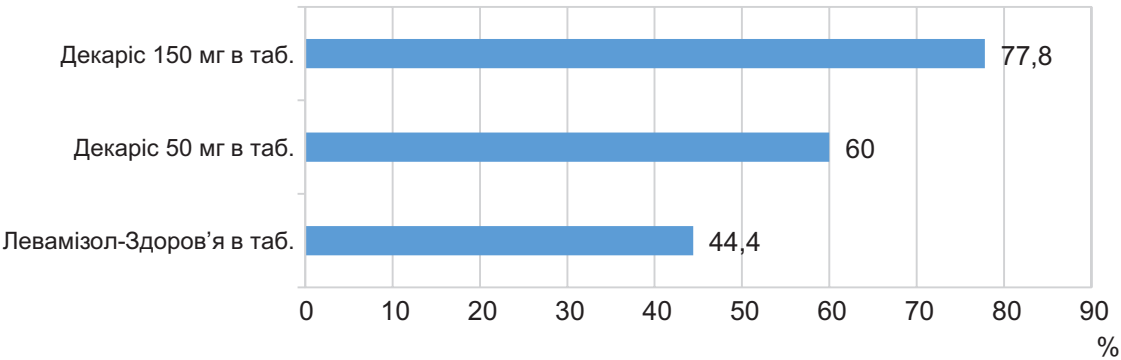


Рис. 4. Рівень попиту на протигельмінтні ЛЗ на основі левамизолу (P02C E01)

Таблиця 7

Цінові показники протигельмінтних ЛЗ на основі левамизолу (P02C E01)

Лікарські засоби	Середня вартість, грн	Випадки збільшення ціни		Випадки зменшення ціни	
		абс.	%	абс.	%
Декаріс 150 мг в таб.	231	38	42,2	50	55,8
Декаріс 50 мг в таб.	148	40	44,4	48	53,3
Левамизол-Здоров'я в таб.	63	46	51,1	42	46,7

Окремо розглянуто організаційно-економічні показники обігу фіточаю на основі пижма квіток (P02C X10). З'ясовано, що рівень попиту на такий фіточай перебуває в межах 60,0 %, а середня ціна зазначеного ЛЗ складає 45 грн, яка має чітку тенденцію до збільшення в аптечних закладах у 62,2 % випадків.

Проведене загальне порівняння досліджуваних препаратів за рівнем попиту дозволяє виокремити найбільш затребувані протигельмінтні ЛЗ, наявні сьогодні на вітчизняному фармацевтичному ринку. До них належать 7 ЛЗ, рівень попиту на які складає понад

70,0 %, а саме: Вермокс у таб., Альбендазол у таб. жув., Ворміл у таб. жув., Пірантел у таб. № 30, Декаріс 150 мг в таб., Пірантел сусп. і Ворміл сусп. (рис. 5).

На останньому етапі наших досліджень було розглянуто деякі обставини відпуску протигельмінтних ЛЗ із аптечних закладів, які можуть впливати на рівень попиту на ці препарати. На думку респондентів, найчастотнішими є конкретні питання пацієнтів, наведені в табл. 8.

Як видно з табл. 8, таких питань 18 і розташовані вони відповідно до рейтингу важливості для пацієнтів.

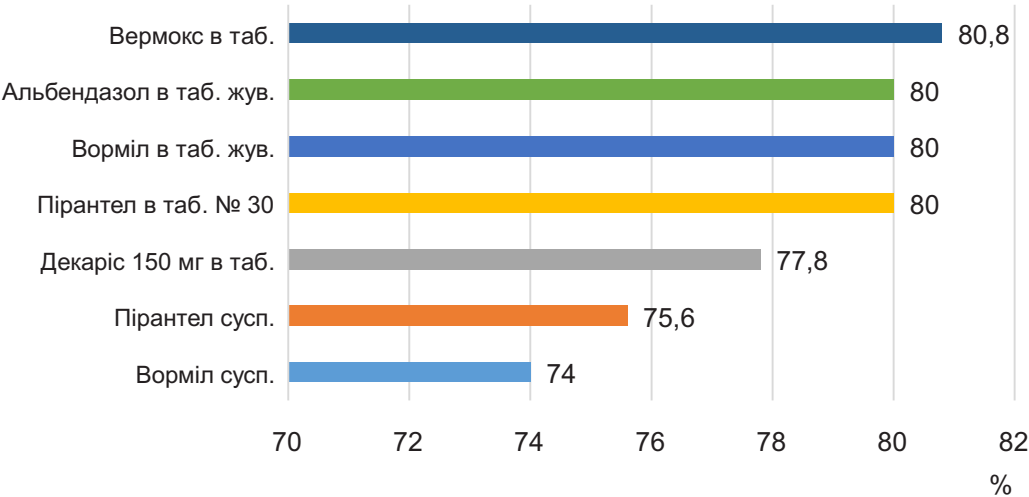


Рис. 5. Протигельмінтні ЛЗ, які мають високий попит на вітчизняному фармацевтичному ринку

Таблиця 8

Перелік та частота виникнення питань під час відпуску антигельмінтних ЛЗ

Питання	Рейтинг	Частота виникнення	
		абс.	%
Вибір оптимальної лікарської форми	1	74	82,2
Питання профілактики за наявності домашніх улюбленців	2	66	73,3
Оптимальний час вживання препарату	3	64	71,1
Особливості індивідуального дозування	4	60	66,7
Вартість курсу лікування	5	60	66,7
Особливості сезонної профілактики	6	56	62,2
Швидкість настання очікуваного результату	7	52	57,8
Можливі побічні або несприятливі дії препарату	8	48	53,3
Особливості взаємодії з їжею	9	46	51,1
Особливості взаємодії з іншими ЛЗ	10	30	33,3
Додаткова інформація про антигельмінтні ЛЗ	11	30	33,3
Особливості вживання антигельмінтних ЛЗ	12	26	28,9
Зберігання в домашніх умовах	13	20	22,2
Підготовка організму перед початком антигельмінтної терапії	14	18	20,0
Особливості взаємодії з алкоголем	15	16	17,8
Інші питання загального характеру	16	16	17,8
Попередження про візуальні та інші ознаки обмеження вживання ЛЗ	17	8	8,9
Особливості взаємодії з нікотинном	18	4	4,4

Так, найвагомішим, за визначенням опитуваних, є питання про вибір оптимальної лікарської форми, далі – про профілактику за наявності домашніх улюбленців, про оптимальний час доби для вживання препарату тощо.

Висновки та перспективи подальших досліджень. З'ясовано організаційно-економічні особливості обігу антигельмінтних ЛЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення. Визначено рівень попиту на ці препарати залежно від основної діючої речовини. Виявлено, що серед антигельмінтних ЛЗ на основі альбендазолу в обігу сьогодні 11 найменувань, попит на які перебуває в межах від 80,0 % (Альбендазол у таб. жув., Ворміл таб. жув.) до 32,0 % (Альбензі сусп.). Антигельмінтних ЛЗ на основі пірантелу в обігу 7 найменувань, з рівнем попиту на них від 88,9 % (Пірантел таб. № 30) до 31,1 % (Гельмінтокс 125 мл в таб. п/о). З'ясовано, що антигельмінтні ЛЗ на основі мебендазолу охоплюють 2 найменування: Вермокс у таб. з попитом на рівні 80,8 % і Вермокс ТМ у таб. з попитом 64,4 %. Серед антигельмінтних ЛЗ на основі левамизолу три найменування: Декаріс 150 мл в таб., попит на який становить 77,8 %, Декаріс 50 мл в таб. із зафіксованим попитом на рівні 60,0 % і Левамизол-Здоров'я в таб. з попитом 44,4 %. Серед усіх досліджених антигельмінтних ЛЗ

виокремлено ті, що мають найвищий показник попиту на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення. За результатами наших досліджень, він перевищує 70,0 %.

З'ясовано також вартісні показники антигельмінтних ЛЗ, наявних на вітчизняному фармацевтичному ринку. Виявлено, що сьогодні середні ціни на зазначені препарати коливаються в широких межах – від 268 грн (Пірантел у таб. № 30) до 63 грн (Левамизол-Здоров'я в таб.). Ціни не мають прямого впливу на попит на ці ЛЗ. Проте вартість препаратів разом з іншими чинниками, пов'язаними з воєнним станом, соціально-економічними ускладненнями та зниженням покупної спроможності населення, складають цілий комплекс факторів впливу.

Окреслено питання, що їх доцільно враховувати під час відпуску антигельмінтних ЛЗ із аптечних закладів.

Отримані результати про організаційно-економічні особливості обігу антигельмінтних ЛЗ на вітчизняному фармацевтичному ринку в умовах сьогодення можуть змінюватись під впливом високих ризиків та невизначеностей, на що важливо звертати увагу на кожному етапі забезпечення такими препаратами аптечних закладів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Гельмінтози – чи є актуальною ця проблема? URL: <http://www.gvkg.kiev.ua/index.php/informatsiia-dlia-khvorykh-fiz/778-helmintozy-chy-ie-aktualnoiu-tsia-problema> (дата звернення: 30.04.2024).
2. Гельмінтози в Україні. Сучасний стан проблеми / І. П. Козярін та ін. *Гігієна населених місць*. 2015. Вип. 66. С. 268-272.
3. Глисти – шкідливі «квартиранти» людини. URL: <http://www.rouoz.gov.ua/health/prevention/?sid=32> (дата звернення: 30.04.2024).
4. Горленко О. М., Поляк-Товт В. М., Поляк М. А. Гельмінтози: епідеміологія, клініка, діагностика та лікування. *Проблеми клінічної педіатрії*. 2013. № 2. С. 10-14.
5. Анкілостомідоз – рідкісний в Україні гельмінтоз (клінічний випадок) / І. М. Гвоздовська та ін. *Актуальна інфектологія*. 2014. № 3. С. 35-37.
6. Семченко К. В., Вишнеvsька Л. І. Методологічні аспекти розробки протигельмінтних ЛЗ. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2020. Т. 6, № 2. С. 13-18.
7. Семченко К. В., Вишнеvsька Л. І. Оцінка доцільності розробки нових вітчизняних протигельмінтних лікарських препаратів з огляду на існуючий асортимент. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2020. Т. 62, № 2. С. 63-70.
8. Group on National Survey of Important Human Parasitic Diseases in China. Soil-transmitted helminthiasis in China: A national survey in 2014-2015 / Y. D. Chen et. al. *PLoS neglected tropical diseases*. 2021. Vol. 15, № 10. P. e0009710. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009710> (Date of access: 30.04.2024).
9. Survey Design to Monitor Drug Efficacy for the Control of Soil-Transmitted Helminthiasis and Schistosomiasis / L. E. Coffeng et al. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2021. Vol. 72, № 3. P. 195-202. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab196> (Date of access: 30.04.2024).
10. Петруня Ю. Є., Говоруха В. Б. Прийняття управлінських рішень : навч. посіб. Київ : Центр учбової літ., 2011. 216 с.
11. Business Intelligence and Analytics Education, and Program Development: A Unique Opportunity for the Information Systems / H. E. Chiang et al. *Discipline ACM Transaction on management information systems*. 2012. Vol. 3, № 3. P. 12-25. URL: http://www.informationintelligence.org/Articles/Business_Intelligence_and_Analytics_Education_ACM_Oct_2012.pdf. (Date of access: 30.04.2024).

REFERENCES

1. Helminthozy – chy ye aktualnoiu tsia problema? Available at: <http://www.gvkg.kiev.ua/index.php/informatsiia-dlia-khvorykh-fiz/778-helmintozy-chy-ie-aktualnoiu-tsia-problema>.
2. Koziarin, I. P., Ivakhno, O. P., Chorna, V. V., Makhniuk, V. M. (2015). Helminthozy v Ukraini. Suchasnyi stan problemy. *Hihiiena naselelykh mist, 66*, 268-272.
3. Hlysty – shkidlyvi «kvartyrany» liudyny. Available at: <http://www.rouoz.gov.ua/health/prevention/?sid=32>.
4. Horlenko, O. M., Poliak-Tovt, V. M., Poliak, M. A. (2013). Helminthozy: epidemiolohiia, klinika, diahnostryka ta likuvannia. *Problemy klinichnoi pediatrii, 2*, 10-14.
5. Hvozдовська, І. М., Пупа, Л. В., Пиддубна, О. В., Хега, Ж. А., Ханчева, О. Є. (2014). Ankilostomidoz – ridkisnyi v Ukraini helmintho (klinichnyi vypadok). *Aktualnaia ynfektolohiia, 3*, 35-37.
6. Semchenko, K. V., Vyshnevskaya, L. I. (2020). Metodolohichni aspekty rozrobky protyhelminthnykh LZ. *Sotsialna farmatsiia v okhroni zdorovia, 6 (2)*, 13-18.
7. Semchenko, K. V., Vyshnevskaya, L. I. (2020). Otsinka dotsilnosti rozrobky novykh vitchyznianskykh protyhelminthnykh likarskykh preparativ z ohliadu na isnuuchy asortyment. *Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii, 62 (2)*, 63-70.
8. Chen, Y. D., Qian, M. B., Zhu, H. H., Zhou, C. H., Zhu, T. J., Huang, J. L. et al. (2021). Group on National Survey of Important Human Parasitic Diseases in China. Soil-transmitted helminthiasis in China: A national survey in 2014-2015. *PLoS neglected tropical diseases, 15 (10)*, e0009710. doi: 10.1371/journal.pntd.0009710.
9. Coffeng, L. E., Levecke, B., Hattendorf, J., Walker, M., Denwood, M. J. (2021). Survey Design to Monitor Drug Efficacy for the Control of Soil-Transmitted Helminthiasis and Schistosomiasis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 72 (3)*, 195-202. doi: 10.1093/cid/ciab196.
10. Petrunia, Yu. Ye., Hovorukha, V. B. (2011). *Pryiniattia upravlinskykh rishen: navch. posib*. Kyiv: Tsentr uchbovoi litteratury.
11. Chiang, H. E., Goes, P., Chiang, H., Stohr, E. (2012). Business Intelligence and Analytics Education, and Program Development: A Unique Opportunity for the Information Systems. *Discipline ACM Transaction on management information systems, 3 (3)*, 12-25. Available at: http://www.informationintelligence.org/Articles/Business_Intelligence_and_Analytics_Education_ACM_Oct_2012.pdf.

Відомості про авторів:

Братішко Ю. С., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри управління та економіки фармації, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

E-mail: uef-ipksf@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3831-8722>

Семченко К. В., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: tolochko.kv@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3824-8899>

Толочко В. М., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри управління та економіки фармації, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

E-mail: uef-ipksf@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8116-4063>

Зарічкова М. В., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри управління та економіки фармації, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: fauzetta@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7980-5669>

Зоїдзе Д. Р., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри управління та економіки фармації, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: 270214@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1180-937X>

Должнікова О. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри управління та економіки фармації, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

E-mail: dolgnikovaolga@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0961-0158>

Information about authors:

Bratishko Yu. S., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine.

E-mail: uef-ipksf@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3831-8722>

Semchenko K. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Pharmacy Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: tolochko.kv@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3824-8899>

Tolochko V. M., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine.

E-mail: uef-ipksf@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8116-4063>

Zarichkova M. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine.

E-mail: fauzetta@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7980-5669>

Zoidze D. R., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), associate professor of the Management and Economics of Pharmacy Department, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine.

E-mail: 270214@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1180-937X>

Dolzhenikova O. M., Candidate of Pharmacy (Ph.D.), assistant professor of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists of the National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine.

E-mail: dolgnikovaolga@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0961-0158>

Надійшла до редакції 01.10.2024 р.

М. В. Ярмій¹, С. Д. Загородня², Л. О. Артюх², Н. П. Половко¹

¹ Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

² Інститут мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України

Дослідження протівірусної дії м'якого лікарського засобу

Мета роботи – дослідити протівірусну активність м'якого лікарського засобу з мангіферином щодо вірусу простого герпесу.

Матеріали та методи. У дослідженнях використовували зразки розробленої м'якої лікарської форми, що містили мангіферин, ксантон, який належить до класу поліфенолів. Мангіферин – світло-жовтий дрібнокристалічний порошок, отриманий із листя дерева манго (*Mangifera indica*), (виробник Shaanxi, Китай). Субстанція містить 98,5 % мангіферину.

Протівірусну активність зразка досліджували на Vero – клітинах нирки африканської зеленої мавпи, отриманих з Банку клітин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Культивували клітини за стандартними методиками. Інфекційний титр вірусу – $7,4 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл. Для дослідження життєздатності клітин використовували МТТ-аналіз модифікації. Антивірусну дію досліджували за стандартними методиками. Активність до ВПГ-1 визначали МТТ-методом за зниженням цитопатичної дії вірусу на клітини та титру вірусу.

Результати та їх обговорення. Визначення безпосереднього ефекту дослідного зразка на позаклітинний вірус герпесу (віруцидної дії) нерозведеного зразка та зразків у розведенні 1:2,5 і 1:5 доводить їхню здатність проявляти значну віруцидну дію щодо ВПГ-1 незалежно від використаного розведення та часу експозиції з вірусом. З'ясовано, що зниження титру вірусу герпесу було в межах $1,7\text{--}2,2 \log_{10}$. У результаті дослідження здатності експериментального зразка впливати на розвиток цитопатичної дії вірусу герпесу з'ясовано, що в розведеннях (1:20–1:320) зразок пригнічує репродукцію вірусу й розвиток ЦПД ВПГ-1 на клітинах Vero, якщо порівнювати з контролем вірусу. Найбільшу ефективність виявлено за використання зразка в розведеннях 1:80–1:320, зниження розвитку цитопатичного впливу вірусу на клітини було в межах 59–64 %. У результаті дослідження інфекційного титру вірусу герпесу, синтезованого *de novo* після обробки різними розведеннями дослідного зразка, з'ясовано, що експериментальний зразок у використаних розведеннях не значно впливає на синтез інфекційного потомства вірусу, зниження титру вірусу не перевищувало $1,1 \log_{10}$. Аналіз цитотоксичності засвідчив, що в розведенні 1:40 та більше максимальне зниження життєздатності клітин становило 18 %, що доводить низьку токсичність зразка.

Висновки. За результатами дослідження доведено здатність дослідного зразка, що містить 5 % мангіферину, ефективно інактивувати позаклітинний вірус простого герпесу 1 типу та значно пригнічувати розвиток цитопатичної дії вірусу на клітини.

Ключові слова: мангіферин; протівірусна активність; вірус простого герпесу; цитотоксичність

M. V. Yarmiy¹, S. D. Zahorodnia², L. O. Artiukh², N. P. Polovko¹

¹ National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

² Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine

The study of the antiviral effect of a soft dosage form

Aim. To study the antiviral activity of a soft medicine with mangiferin against the herpes simplex virus.

Materials and methods. The studies used samples of the soft dosage form developed with mangiferin, a xanthone belonging to the class of polyphenols. Mangiferin is a light yellow fine crystalline powder obtained from the leaves of the mango tree (*Mangifera indica*), (manufacturer Shaanxi, China). The substance contains 98.5 % of mangiferin.

The antiviral activity was studied on Vero kidney cells of an African green monkey obtained from the Cell Bank of the Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology named after R. E. Kavetsky of the National Academy of Sciences of Ukraine. The cell cultivation was performed according to standard methods. The cultivation and accumulation of the virus was carried out on Vero cell culture. The infectious titer of the virus was $7.4 \log_{10}$ TCD₅₀/ml. The MTT modification analysis was used to study the cell viability. The antiviral activity was studied according to standard methods. The virulicidal activity against HSV-1 was determined by decreasing the cytopathic effect of the virus on cells and the virus titer using the MTT method.

Results and discussion. The determination of the direct effect of the test sample on the extracellular herpes virus (virucidal effect) of an undiluted sample and samples in a dilution of 1:2.5 and 1:5 showed their ability to exhibit a significant virucidal effect against HSV-1 regardless of the dilution used and the exposure time with the virus. It was found that the decrease in the titer of the herpes virus was within $1.7\text{--}2.2 \log_{10}$. When studying the ability of the test sample to influence the development of the cytopathic effect of the herpes virus on cells, it was determined that in dilutions (1:20–1:320), the sample inhibited the reproduction of the virus and the development of HSV-1 on Vero cells compared to the control virus. The greatest efficiency was found when using the sample in dilutions of 1:80–1:320; the reduction in the development of the cytopathic effect of the virus on cells was in the range of 59–64 %. When studying the infectious titer of the herpes virus synthesized *de novo* after the treatment with various dilutions of the test sample, it was shown that the test sample in the dilutions used did not significantly affect the synthesis of the infectious progeny

of the virus, the decrease in the viral titer did not exceed $1.1 \log_{10}$. Cytotoxicity assays showed that in the dilutions of 1:40 or more, the maximum reduction in cell viability was 18 %, indicating low toxicity of the sample.

Conclusions. According to the results of the study, the ability of the test sample containing 5 % mangiferin to effectively inactivate the extracellular herpes simplex virus Type 1 and significantly inhibit the development of the cytopathic effect of the virus on cells has been found.

Keywords: mangiferin; antiviral activity; herpes simplex virus; cytotoxicity

Вступ. Сьогодні герпетична інфекція привертає все більше уваги дослідників у питанні пошуку нових ефективних засобів її фармакотерапії. Підвищена зацікавленість до герпетичної інфекції пов'язана з її широкою розповсюдженістю у світі, адже уражено близько 95 % населення, а також з тим, що вірус герпесу здатний уражати практично всі органи й системи організму людини та спричиняти різні форми інфекції – гостру, латентну і хронічну рецидивну [1, 2].

У сучасній медицині не існує засобів і методів лікування, які дозволяють елімінувати вірус простого герпесу з організму людини, а лікування герпетичної інфекції складне і недостатньо ефективне. Сучасні методи лікування спрямовані на перешкоджання розвитку вірусу або відновлення тих порушень, що їх викликає активація вірусу герпесу в організмі. Можна виокремити два основні напрями терапії герпесу: застосування етіопатогенетичної протівірусної терапії (ацикловір, валацикловір, фамцикловір) і комплексний метод лікування, який передбачає специфічну та неспецифічну імунотерапію в поєднанні з протівірусною терапією [3-5].

Кількість засобів для лікування герпетичних уражень обмежена, тому створення нових оригінальних препаратів є доцільним і своєчасним.

Одним із перспективних напрямів є пошук природних АФІ та створення на їх основі оригінальних вітчизняних препаратів, які поєднують різні механізми протівірусного захисту, з додатковими фармакологічними ефектами [6].

З огляду на це перспективною сировиною для створення протигерпетичного засобу є мангіферин, основним промисловим джерелом якого є дерево манго (*Mangifera indica*). Мангіферин володіє численними фармакологічними ефектами [7, 8], насамперед такими, як протизапальний [9, 10], імуномодулювальний [11], знеболювальний [12], антиоксидантний [13] і антибактеріальний [13, 14]. Експериментально підтверджено, що мангіферин виявляє антибактеріальну дію проти *Staphylococcus aureus* [15, 16] і *Escherichia coli* [16, 17], а також протигрибкову дію проти *C. albicans*, *A. niger* і *A. flavus* [17, 18].

Мангіферин володіє протівірусною властивістю. У дослідженнях Zheng MS та Lu ZY з використанням техніки культивування тканин уперше продемонстровано протівірусну дію мангіферину та ізомангіферину проти вірусу простого герпесу I типу (HSV-I) [19]. Дослідження Wen-Da Wang, Gang Chen довели, що мангіферин, отриманий із кореневища *Anemarrhena asphodeloides*, також виявляє протівірусну активність щодо вірусу герпесу 1 типу [20]. З огляду на вищезазначене перспективним є дослідження протівірусної активності м'якої лікарської форми з мангіферином для нашкодженості застосування.

Мета роботи – дослідити протівірусну активність м'якого лікарського засобу з мангіферином щодо вірусу простого герпесу.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був засіб у м'якій лікарській формі, що містив 5 % мангіферину. Мангіферин (2-C-b-D-glucopyranosyl-1,3,6,7-тетрагідроксиксантон), назва якого відповідно до IUPAC 1,3,6,7-тетрагідрокси-2-[3,4,5-тригідрокси-6-(гідроксиметил)оксан-2-іл]ксантен-9-он, – ксантоноід, що належить до класу поліфенолів. Це світло-жовтий дрібнокристалічний порошок, отриманий із листя дерева манго (*Mangifera indica*), (виробник Shaanxi, Китай). Субстанція містить 98,5 % мангіферину.

Вірусологічні дослідження проводили за загальноновідомими методиками [21, 22].

Вірусологічні дослідження. Культура клітин і вірус. Vero – клітини нирки африканської зеленої мавпи, отримані з Банку клітин Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ, Україна). Культивували клітини за стандартними методиками.

ВПП-1 (вірус простого герпесу 1 типу) отримали з музею вірусів Інституту антивірусної хіміотерапії Центру клінічної та теоретичної медицини (Ерфурт, Німеччина). Культивування і накопичення вірусу здійснювали на культурі клітин ВНК-21. Інфекційний титр вірусу – $7,4 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл.

Дослідження токсичності. МТТ-аналіз у модифікації використали для дослідження життєздатності клітин. Через 24 години росту клітин до них вносили 200 мкл середовища зі сполукою відповідної концентрації. Планшети з клітинами витримували за 37 °C в 5 % CO₂ атмосфері протягом 3 діб. Контролювали стан моношару клітин за допомогою світлового інвертованого мікроскопа (збільшення x70). Субстрат МТТ (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифеніл тетразолію бромід) (Sigma, США) розчиняли в стерильному фосфатному буфері (рН 7,2) за кімнатної температури до концентрації 5 мг/мл. Фільтрований розчин МТТ в об'ємі 20 мкл вносили до лунки 96-лункового планшета та інкубували з клітинами протягом 2-4 год за 37° C. Після інкубації середовище видаляли, до клітин додавали по 150 мкл 96° етанолу для розчинення кристалів формазау. Результати аналізували спектрофотометрично на рідері Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) за довжини хвилі 538 нм. Визначали відсоток життєздатних клітин (мітохондріальна активність) за формулою:

$$\text{життєздатність клітин (\%)} = (At/As) \times 100 \%,$$

де: As – середнє значення оптичної щільності зразків контролю клітин, At – середнє значення оптичної щільності дослідних зразків для певної концентрації.

Дослідження антивірусної дії. Для детального дослідження активності зразка щодо ВПГ-1 використовували певні експериментальні процедури.

(А) віруліцидна дія. ВПГ-1 нерозведений змішували у рівному об'ємі з різним розведенням зразка та інкубували за 37 °С протягом 10, 30 та 60 хв. Потім робили десятиразові розведення суміші зразок – вірус. До моношару клітин Vero додавали відповідне розведення суміші зразок–вірус по 50 мкл на лунку. Після адсорбції вірусу в атмосфері 5 % CO₂ за 37 °С протягом 1,5 год до клітин вносили по 150 мкл підтримувального середовища без сироватки. Плашку витримували в 5 % CO₂ за 37 °С до появи вираженої цитопатичної дії вірусу (2-3 доби). Віруліцидну активність щодо ВПГ-1 визначали МТТ-методом за зниженням цитопатичної дії вірусу (ЦПД) на клітин та титру вірусу.

(Б) внесення зразка після інфікування клітин вірусом. Клітини інфікували вірусом герпесу по 50 мкл на лунку та інкубували з вірусом протягом 1,5 год за 37°С в атмосфері 5 % CO₂. Потім вірус видаляли й додавали підтримувальне середовище без сироватки з відповідною концентрацією досліджуваного зразка. Через 72 год її активність щодо ВПГ-1 визначали МТТ-методом за зниженням цитопатичної дії вірусу. Паралельно відбирали проби для визначення впливу зразка на інфекційний титр нащадків вірусу, синтезованих *de novo*.

Визначення інфекційного титру вірусу. До клітин додавали вірусовмісний матеріал десятиразового серійного розведення (лізати зразків відбирали з лунок через 72 год після обробки вірусу з відповідними концентраціями сполуки). Для цього з планшета видаляли живильне середовище, а в лунки додавали 50 мкл суспензії вірусовмісного матеріалу, розведеного в підтримувальному середовищі без сироватки, і проводили його адсорбцію на поверхні клітин протягом 1,5 год за 37°С в атмосфері 5 % CO₂. У контрольних клітинах заміняли середовище на підтримувальне. Після адсорбції до клітин додавали 150 мкл підтримувального середовища без сироватки та інкубували в атмосфері 5 % CO₂ за 37°С протягом 3 діб. Для виявлення ЦПД стан моношару клітин контролювали, використовуючи світловий інвертований мікроскоп (збільшення x70). Результати аналізували спектрофотометрично на рідері Multiskan FC (Thermo Scientific, США) за довжини хвиль 538 нм. Використовуючи отримані оптичні щільності, визначали % пригнічення життєздатності клітин під дією вірусу за формулою:

$$\% \text{ пригнічення життєздатності} = 100 - (A \times 100/B),$$

де: А – середня оптична щільність дослідного зразка, В – середня оптична щільність контролю клітин.

Визначали розведення вірусу, яке зменшує оптичну щільність зразка проти оптичної щільності контролю клітин на 50 %, що і є титром вірусу в ТЦД₅₀/мл.

Зниження титру вірусу після обробки засобом визначали за формулою:

$$\text{зниження інфекційного титру} = \text{титр вірусу в контролі} - \text{титр вірусу в досліді}$$

Зниження інфекційного титру вірусу на 2 log₁₀ і більше проти контролю свідчить про виражену активність засобу щодо вірусу.

Отримані дані обробляли за стандартними підходами до обчислення статистичних помилок (стандартне відхилення), використовуючи програму Microsoft Excel 2010. Результати відображали як середнє значення ± S.D., отримане в трьох-чотирьох незалежних експериментах.

Результати та їх обговорення. Вірусологічні дослідження проводили з використанням суспензії мангіферину в основі, яка містила суміш розчинників у співвідношенні цих речовин у розробленій лікарській формі.

Визначення токсичності сполуки для культури клітин. Цитотоксичний вплив для кожного розведення дослідного зразка оцінювали за життєздатністю клітин МТТ-методом. Як видно з рис. 1, зразок у розведеннях 1:40-1:640 не проявив токсичного ефекту на популяцію клітин Vero, бо життєздатність клітин проти контрольного значення була в межах 82-100 %. Натомість зразок у розведенні 1:10 та 1:20 був дещо токсичним для клітин, бо знижував життєздатність і функціональну активність клітин на 42-44 %. Наявність цього ефекту, можливо, зумовлено дією співрозчинника ПЕО-400, що потребує подальшого дослідження з метою визначення потенційних токсичних ефектів розробленого препарату.

Визначення антигерпетичної дії дослідного зразка. Для визначення безпосереднього ефекту дослідного зразка, що містить 5 % мангіферину, на позаклітинний вірус герпесу (віруцидної дії), зразок (нерозведений, у розведенні 1:2,5 та 1:5) змішували в рівних об'ємах із нерозведеним вірусом простого герпесу 1 типу, проводили інкубацію суспензії зразок–вірус протягом 10, 30 та 60 хв і визначали зміну титру вірусу.

З'ясували, що дослідний зразок проявляє значну віруцидну дію щодо ВПГ-1 (рис. 2). Однак варто зауважити, що віруцидна дія зразка була подібною незалежно від використаного його розведення та часу експозиції з вірусом, адже зниження титру вірусу герпесу було в межах 1,7-2,2 log₁₀.

Досліджено здатність зразка впливати на розвиток цитопатичної дії вірусу герпесу на клітинах. Для цього зразок у нетоксичних для клітин розведеннях вносили до клітин одразу після адсорбції та проникнення вірусу й аналізували розвиток ЦПД вірусу.

З'ясували, що в розведеннях (1:20-1:320) зразок пригнічує репродукцію вірусу та розвиток ЦПД ВПГ-1 на клітинах Vero, якщо порівнювати з контролем вірусу. Найбільшу ефективність виявили за використання зразка в розведеннях 1:80-1:320, адже

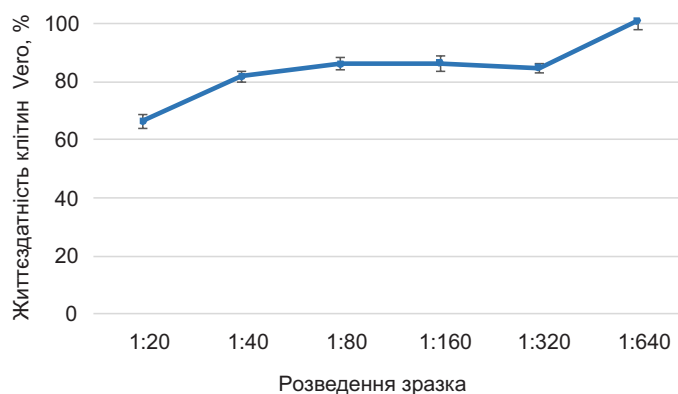


Рис. 1. Вплив мангіферину на життєздатність чутливих до вірусу герпесу клітин

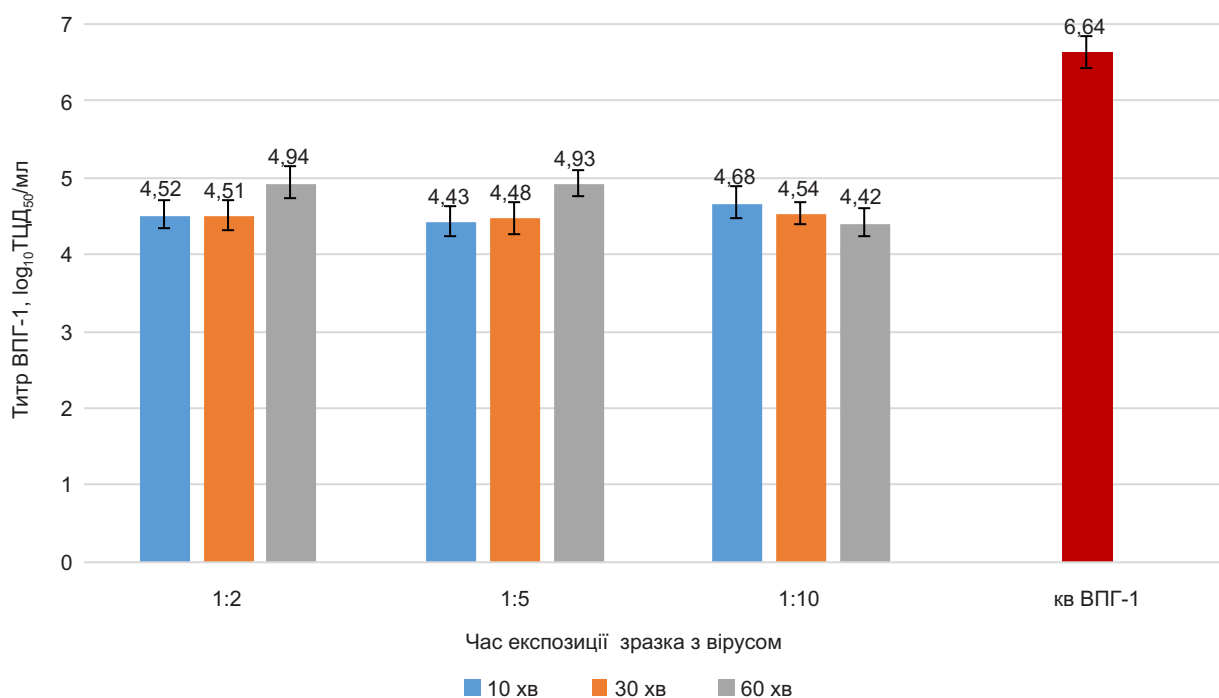


Рис. 2. Віруцидна активність дослідного зразка

зниження розвитку цитопатичного впливу вірусу на клітини було в межах 59-64 % (рис. 3).

Наявність або відсутність впливу сполук на ЦПД вірусу ще не дає відповіді стосовно якості, повноцінності та інфекційності потомства вірусу, тому

дослідили інфекційний титр вірусу герпесу, синтезованого *de novo* після обробки різними розведеннями дослідного зразка. Як видно з рис. 4, зразок у використаних розведеннях не значно впливає на синтез інфекційного потомства вірусу за такої схеми

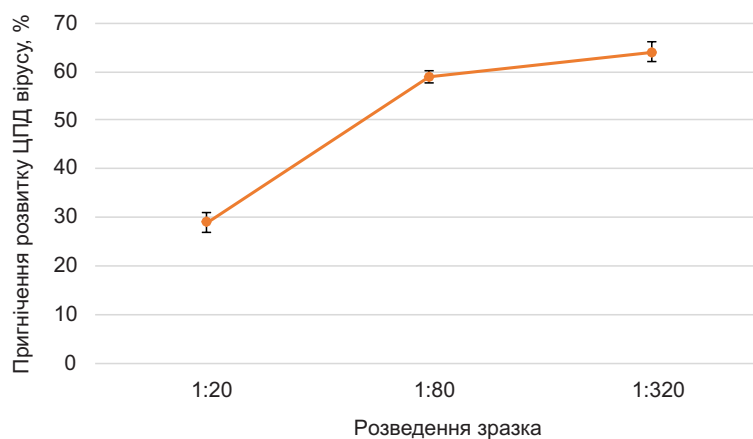
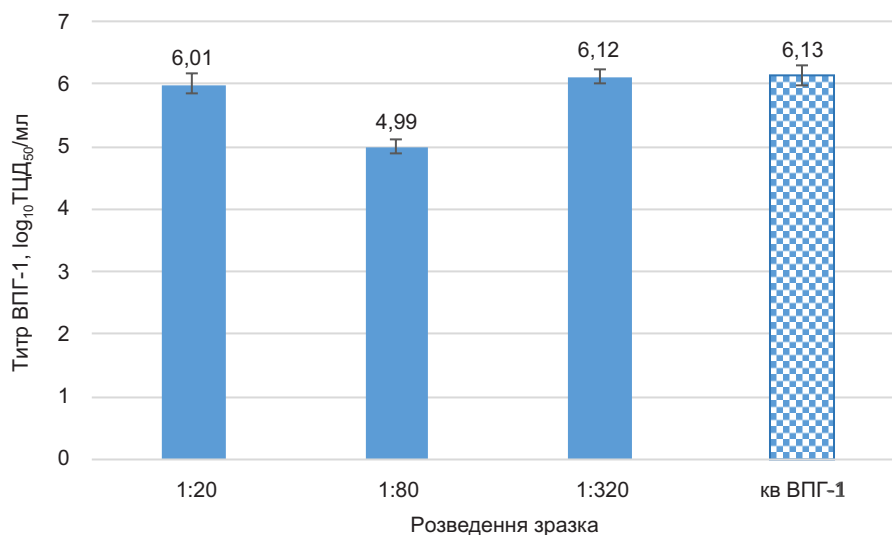


Рис. 3. Вплив дослідного зразка на розвиток ЦПД вірусу герпесу

Рис. 4. Вплив сполуки на інфекційний титр ВПГ-1, синтезованого *de novo*

оброблення, адже зниження титру вірусу не перевищувало $1,1 \log_{10}$.

Виявлено, що в зазначених розведеннях дослідний зразок ефективно пригнічує репродукцію вірусу та розвиток ЦПД ВПГ-1 на клітинах Vero.

Важливо зауважити, що за всіх розведень засіб виявляє противірусну активність. Однак дослідний зразок не значно впливає на формування інфекційного й повноцінного потомства вірусу герпесу, адже зниження титру вірусу, синтезованого *de novo*, не перевищувало $1,1 \log_{10}$, що доводить необхідність подальшого аналізу механізмів і мішеней протигерпетичної активності мангіферину.

Висновки. Експериментально з'ясовано, що дослідний зразок проявляє виражену віруцидну дію

щодо ВПГ-1; зниження титру вірусу герпесу було в межах $1,7-2,2 \log_{10}$.

Виявлено, що в запропонованих розведеннях засіб ефективно пригнічує репродукцію вірусу та розвиток ЦПД ВПГ-1 на клітинах Vero.

На наступних етапах досліджень доцільно вивчити токсикологічні властивості дослідного зразка *in vivo*.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Подяка. Директору інституту мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, д.біол.н., проф., заслуженому діячу науки і техніки України, академіку НАН України Миколі Яковичу Співаку за сприяння у проведенні мікробіологічних досліджень.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Cole S. Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nurs Clin North Am*. 2020. Vol. 55, № 3. P. 337-345. DOI: 10.1016/j.cnur.2020.05.004.
- Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection / R. Engelberg et al. *Sex Transm Dis*. 2003. Vol. 30, № 2. P. 174-177. DOI: 10.1097/00007435-200302000-00015.
- Матейков Г. Б., Веприк Т. В., Горбальов Н. Б. Лікування пацієнтів із герпетичною інфекцією за принципами доказової медицини. *Запорозький медичний журнал*. 2020. № 3 (120). С. 420-430. DOI: 10.14739/2310-1210.2020.3.204958.
- Маркін Л., Матвієнко О., Коритко О., Шатилевич К. Сучасні підходи до терапії генітального герпесу у жінок: Огляд літератури. *Репродуктивна ендокринологія*. 2023. № 2-3(68). С. 94-98. DOI: 10.18370/2309-4117.2023.68.94-98.
- Крамарьов С. О., Євтушенко В. В. Сучасні підходи до лікування герпетичної інфекції в дітей. *Актуальна інсектологія*. 2019. № 7 (3). С. 144-149. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/akinf_2019_7_3_4.
- Garber A., Barnard L., Pickrell C. Review of Whole Plant Extracts With Activity Against Herpes Simplex Viruses In Vitro and In Vivo. *J Evid Based Integr Med*. 2021. Vol. 26. P. 1-57. DOI: 10.1177/2515690X20978394.
- Ediriweera M. K., Tennekoon K. H., Samarakoon S. R. A review on ethno pharmacological applications, pharmacological activities and bioactive compounds of *Mangifera indica* (mango). *Evid-Based Complement Alternat Med*. 2017. Vol. 2017. P. 1-24. DOI: 10.1155/2017/6949835.
- Benard O., Chi Y. Medicinal Properties of Mangiferin, Structural Features, Derivative Synthesis. *Pharmacokinetics and Biological Activities. Mini reviews in medicinal chemistry*. 2015. Vol. 15 (7). P. 582-594. DOI: 10.2174/1389557515666150401111410.
- Saha S., Sadhukhan P., Sil P. C. Mangiferin: A xanthone with multipotent anti-inflammatory potential. *Biofactors*. 2016. Vol. 42, № 5. P. 459-474. DOI: 10.1002/biof.1292.
- Wang Y., Cui C., Sun H. Anti-Inflammatory Effect of Mangiferin on an Experimental Model of Allergic Rhinitis through the Inhibition of NF- κ B Signaling Pathways. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2020. Vol. 39, № 4. P. 357-364. DOI: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2020032390.
- Anti-inflammatory and immunomodulatory activity of *Mangifera indica* L. reveals the modulation of COX-2/mPGES-1 axis and Th17/Treg ratio / A. Saviano et al. *Pharmacol Res*. 2022. Vol. 182. P. 106283. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106283.
- Mangiferin: Analgesic properties in neuropathic pain, molecular docking and meta-analysis / B. Chan et al. *Phytomedicine Plus*. 2022. Vol. 2, № 1. DOI: 10.1016/j.phyplu.2021.100170.

13. Maharaj A., Naidoo Y., Dewir Y. H., Rihan H. Phytochemical screening and antibacterial and antioxidant activities of *Mangifera indica* leaves. *Horticulturae*. 2022. Vol. 8, № (10). P. 909. DOI: 10.3390/horticulturae8100909.
14. Alaiya M. A., Odeniyi M. A. Utilisation of *Mangifera indica* plant extracts and parts in antimicrobial formulations and as a pharmaceutical excipient: a review. *Futur. J Pharm Sci*. 2023. Vol. 9, № 29. DOI: 10.1186/s43094-023-00479-z.
15. Diso S., Alli M., Mukhtar S., Garba M. Antibacterial activity and phytochemical screening of (*Mangifera indica*) Mango stem and leaf extracts on clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Adv Med Pharm Sci*. 2017. Vol. 13, № 1. P. 1-6. DOI: 10.9734/JAMPS/2017/31127.
16. Evaluation of antimicrobial activity and bioactive phytochemical properties of mango (*Mangifera indica*) stem-bark extracts / O. I. Ogidi et al. *Int J Pharmacogn*. 2021. Vol. 8, № 5. P. 189-195. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.8(5).189-95.
17. Osei-Djarbeng R. O., Kwarteng R. O., Osei-Asante S., Owusu-Dapaah G. Comparative antimicrobial activities of ethanol extracts of leaves, seed and stem bark of *Mangifera indica* (Mango). *J Pharmacognosy Phytochem*. 2020. Vol. 9, № 1. P. 1240-1243.
18. Diesegha G. C., Akani N. P. Antifungal activity of *Mangifera indica* leaf extracts on selected fungi. *Curr stud Comparat Educ Sci Technol*. 2017. Vol. 4, № 2. P. 136-148.
19. Zheng M. S., Lu Z. Y. Antiviral effect of mangiferin and isomangiferin on herpes simplex virus. *Chin Med J.*, 1990. Vol. 103, № 2. P. 160-165.
20. Wang W.-D., Chen G. Antiviral activity of against herpes simplex virus type 1 Asian Pacific. *Journal of Tropical Biomedicine*. 2023. Vol. 13, № 3. P. 112-120. DOI: 10.4103/2221-1691.372284.
21. Крутських Т. В., Нестерова Н. В., Загородня С. Д. Вивчення притигерпетичної активності таблеток Альтабор. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С.108-110.
22. Naumenko K., Zagorodnya S., Golovan A., Kovtyn V. Antiviral and apoptosis modulating effect of methylenebisphosphonic acids. *Advances in Biology*. 2016. Vol. 9, № 3. P. 1896-1902.

REFERENCES

1. Cole, S. (2020). Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nurs Clin North Am.*, 55(3), 337-345. doi: 10.1016/j.cnur.2020.05.004.
2. Engelberg, R., Carrell, D., Krantz, E., Corey, L., Wald, A. (2003). *Sex Transm Dis.*, 30(2), 174-7. doi: 10.1097/00007435-200302000-00015.
3. Mateikov, G. B., Veprik, T. V., Gorbakov, N. B. (2020). Treatment of patients with herpes infection according to the principles of evidence-based medicine. *Zaporozhye Medical Journal*, 22, 3(120), 420-430. doi: 10.14739/2310-1210.2020.3.204958.
4. Markin, L., Matvienko, O., Korytko, O., Shatlyovych, K. (2023). Modern approaches to the therapy of genital herpes in women: A review of the literature. *Reproductive endocrinology*, 2-3 (68), 94-98. doi: 10.18370/2309-4117.2023.68.94-98.
5. Kramarev, S. O., Yevtushenko, V. V. (2019). Modern approaches to the treatment of herpes infection in children. *Current Insectology*, 7(3), 144-149. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/akinf_2019_7_3_4.
6. Garber, A., Barnard, L., Pickrell, C. (2021). Review of Whole Plant Extracts With Activity Against Herpes Simplex Viruses In Vitro and In Vivo. *J Evid Based Integr Med*, 26, 1-57. doi: 10.1177/2515690X20978394.
7. Ediriweera, M. K., Tennekoon, K. H., Samarakoon, S. R. (2017). A review on ethno pharmacological applications, pharmacological activities and bioactive compounds of *Mangifera indica* (mango). *Evid-Based Complement Alternat Med.*, 2017, 1-24. doi: 10.1155/2017/6949835.
8. Benard, O., Chi, Y. (2015). Medicinal Properties of Mangiferin, Structural Features, Derivative Synthesis. *Pharmacokinetics and Biological Activities. Mini reviews in medicinal chemistry*, 15(7), 582-594. doi: 10.2174/1389557515666150401111410.
9. Saha, S., Sadhukhan, P., Sil, P. C. (2016). Mangiferin: A xanthone with multipotent anti-inflammatory potential. *Biofactors*, 42 (5), 459-474. [https://doi: 10.1002/biof.1292](https://doi.org/10.1002/biof.1292).
10. Wang, Y., Cui, C., Sun, H. (2020). Anti-Inflammatory Effect of Mangiferin on an Experimental Model of Allergic Rhinitis through the Inhibition of NF-κB Signaling Pathways. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.*, 39(4), 357-364. doi: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2020032390.
11. Saviano, A., Raucci, F., Casillo, G. M., Mansour, A. A., Piccolo V., Montesano C. et al. (2022). Anti-inflammatory and immunomodulatory activity of *Mangifera indica* L. reveals the modulation of COX-2/mPGES-1 axis and Th17/Treg ratio. *Pharmacol Res.*, 182, 106283. doi:10.1016/j.phrs.2022.106283.
12. Chang, B., Jiang, H., Wei, Y., Gong, Q., Yu, D., Dong, Z. et al. (2022). Mangiferin: Analgesic properties in neuropathic pain, molecular docking and meta-analysis. *Phytomedicine Plus*, 2(1). doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100170.
13. Maharaj, A., Naidoo, Y., Dewir, Y. H., Rihan, H. (2022). Phytochemical screening and antibacterial and antioxidant activities of *Mangifera indica* leaves. *Horticulturae*, 8(10), 909. doi: 10.3390/horticulturae8100909.
14. Alaiya, M. A., Odeniyi, M. A. (2023). Utilisation of *Mangifera indica* plant extracts and parts in antimicrobial formulations and as a pharmaceutical excipient: a review. *Futur. J Pharm Sci.*, 9(1), 29. doi: 10.1186/s43094-023-00479-z.
15. Diso, S., Alli, M., Mukhtar, S., Garba, M. (2017). Antibacterial activity and phytochemical screening of (*Mangifera indica*) Mango stem and leaf extracts on clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Adv Med Pharm Sci.*, 13(1), 1-6. doi: 10.9734/JAMPS/2017/31127.
16. Ogidi, O. I., Okore, C. C., Akpan, U. M., Ayebabogha, M. N., Onukwufo, C. J. (2021). Evaluation of antimicrobial activity and bioactive phytochemical properties of mango (*Mangifera indica*) stem-bark extracts. *Int J Pharmacogn*. 8(5), 189-195. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.8(5).189-95.
17. Osei-Djarbeng, R. O., Kwarteng, R. O., Osei-Asante, S., Owusu-Dapaah, G. (2020). Comparative antimicrobial activities of ethanol extracts of leaves, seed and stem bark of *Mangifera indica* (Mango). *J Pharmacognosy Phytochem*, 9(1), 1240-1243.
18. Diesegha, G. C., Akani, N. P. (2017). Antifungal activity of *Mangifera indica* leaf extracts on selected fungi. *Curr stud Comparat Educ Sci Technol.*, 4(2), 136-148.
19. Zheng, M. S., Lu, Z. Y. (1990). Antiviral effect of mangiferin and isomangiferin on herpes simplex virus. *Chin Med J.*, 103(2), 160-165.

20. Wang, W.-D., Chen, G. (2023). Antiviral activity of against herpes simplex virus type 1. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13(3), 112-120. doi: 10.4103/2221-1691.372284.
21. Krutskikh, T. V., Nesterova, N. V., Zagorodnya, S. D. (2015). Study of antiherpetic activity of Altabor tablets. *Pharmaceutical journal*, (2), 108-110.
22. Naumenko, K., Zagorodnya, S., Golovan, A., Kovtyn, V. (2016). Antiviral and apoptosis modulating effect of methylenebisphosphonic acids. *Advances in Biology*, 9 (3), 1896-1902.

Відомості про авторів:

Яромий М. В., аспірантка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: maryana011189@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-2801>

Загородня С. Д., кандидат біологічних наук, завідувачка відділу репродукції вірусів, Інститут мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України. E-mail: svetazagorodnya@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0892-772X>

Артиух Л. О., кандидат біологічних наук, старша наукова співробітниця відділу репродукції вірусів, Інститут мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України. E-mail: bilyavskal@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3163-2492>

Половко Н. П., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: np.polovko@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3189-7394>

Information about authors:

Yaromiy M. V., postgraduate student of the Department of Pharmacy Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: maryana011189@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-2801>

Zagorodnia S. D., Candidate of Biology (PhD), head of the Department of Virus Reproduction, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine. E-mail: svetazagorodnya@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0892-772X>

Artiukh L. O., Candidate of Biology (PhD), senior researcher of the Department of Virus Reproduction, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine. E-mail: bilyavskal@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3163-2492>

Polovko N. P., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Pharmacy Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: np.polovko@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3189-7394>

Надійшла до редакції 03.10.2024 р.

С. С. Зуйкіна, П. В. Паливода

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Методологія розробки гранул з модифікованим вивільненням на основі фітоекстрактів для лікування мастопатії

Мета роботи – обґрунтувати науково-методичний підхід до розробки складу та технології гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням діючих речовин для комплексного лікування мастопатії.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконували, опрацьовуючи електронні та паперові джерела інформації щодо етіопатогенетичних чинників мастопатії, концепції розробки лікарських препаратів з модифікованим вивільненням активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), маркетингового аналізу ринку лікарських препаратів та дієтичних добавок (ДД) для лікування мастопатії.

Результати та їх обговорення. Проведено інформаційний пошук з вивчення етіології, патогенезу, клінічних проявів та фармакотерапії захворювань молочних залоз. Наведено й обґрунтовано етапи експериментальних досліджень щодо створення лікарського препарату у формі гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням діючих речовин, що передбачають маркетингові та статистичні методи досліджень електронних і паперових джерел інформації про розповсюдженість і наслідки мастопатії, розробку гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ, стандартизацію, доклінічні дослідження розробленого лікарського засобу.

Висновки. Обґрунтовано науково-методичний підхід до розробки складу та технології гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ для комплексної фармакокорекції мастопатії та запобігання появі злоякісних новоутворень у тканинах молочної залози.

Ключові слова: мастопатія; гранули з модифікованим вивільненням; методологія; фітоекстракти

S. S. Zuykina, P. V. Palyvoda

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The methodology for developing modified release granules based on phytoextracts for the treatment of mastopathy

Aim. To substantiate the scientific and methodological approach to the development of the composition and technology of granules based on phytoextracts with modified release of active substances for the complex treatment of mastopathy.

Materials and methods. The research was conducted by processing electronic and paper sources of information on the etiopathogenetic factors of mastopathy, the concept of developing medicinal products with modified release of active pharmaceutical ingredients (APIs), the market analysis of medicines and dietary supplements (DS) for the treatment of mastopathy.

Results. An information search has been conducted to study the etiology, pathogenesis, clinical manifestations and pharmacotherapy of breast diseases. The article presents and substantiates the stages of experimental research on the development of a medicinal product in the form of granules based on phytoextracts with a modified release of active substances, including marketing and statistical research methods of electronic and paper sources of information on the prevalence and consequences of mastopathy, development of granules based on phytoextracts with a modified release of APIs, standardization, preclinical studies of the medicinal product developed.

Conclusions. The scientific and methodical approach to the development of the composition and technology of granules based on phytoextracts with a modified API release for the complex pharmacocorrection of mastopathy and prevention of the appearance of malignant neoplasms in breast tissues has been substantiated.

Keywords: mastopathy; granules with modified release; methodology; phytoextracts

Вступ. Фіброзно-кістозна мастопатія є найпоширенішим доброякісним типом захворювання молочних залоз, діагностованим у мільйонів жінок у всьому світі. В основі функціонування, оцінки та лікування цього захворювання лежать певні гормональні чинники. Доброякісне захворювання молочної залози – загальний термін для різних незлоякісних уражень тканин молочної залози, зокрема новоутворень, травм, мастодинії [1-3].

Після 30 років приблизно у 50 % жінок розвивається мастопатія, а у 20 % з них макрокісти викликають низку симптомів – біль, ущільнення, виділення з сосків тощо. Ці зміни пов'язані з гормональним

дисбалансом, за якого переважає надмірне продукування естрогену та дефіцит прогестерону, що призводить до гіперпроліферації сполучної тканини, викликає збільшення товщини епітелію. Новоутворення в жінок старшого віку, зокрема в клімактеричному періоді, зазвичай з'являються внаслідок замісної гормональної терапії і можуть мати вищий ризик злоякісного утворення [4-6].

За даними Національного канцер-реєстру України станом на початок 2024 року, захворюваність на рак молочної залози (РМЗ) серед жінок у 2022-2023 рр. демонструє стабільне зростання показників. Кількість виявлених захворюєлих на РМЗ проти попереднього

року зросла на 15,7 %. Оцінюючи стан діагностики раку грудної залози в 2023 році, зазначимо, що цю патологію виявляли переважно (68,6 %) на 1 та 2 стадії. На занедбаній (3-4) стадії злякисні новоутворення виявили у 26,2 % первинних хворих. Істотне перевищення середнього рівня занедбаності (від 36,7 % до 38,8 %) зареєстровано в Закарпатській, Тернопільській та Харківській областях [7].

Ситуація пов'язана з незадовільним станом сучасної діагностики, спричиненим низьким рівнем санітарної культури населення, хронічним стресом, притаманним мешканцям великих міст, низькою інформованістю жінок щодо перебігу та наслідків захворювання, професійною шкідливістю, погіршенням екологічної ситуації у світі.

На фармацевтичному ринку засоби для лікування мастопатії представлено як препаратами синтетичного, так і природного походження в різних лікарських формах. Синтетичні лікарські засоби не забезпечують комплексної дії, що вимагає додаткового вживання інших препаратів [8].

Одним зі шляхів розв'язання проблеми ефективного лікування мастопатії є розробка багатокомпонентної лікарської форми на основі фітокомпозицій з модифікованим вивільненням АФІ, що мають низьку потенційних переваг – контрольований рух по шлунково-кишковому тракту, відсутність ризику передозування, можливість управління профілем вивільнення, підвищена біодоступність, а також менша внутрішньосуб'єктна і міжсуб'єктна варіабельність фармакокінетичних характеристик. Ефективність препаратів зумовлено вмістом у них фітогормонів, здатних індукувати й посилювати апоптоз, блокувати дію ростових факторів на клітину та моделювати імунні реакції щодо злякисної клітини [9-11].

Мета роботи – обґрунтувати науково-методичний підхід до розробки складу та технології гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ для комплексного лікування мастопатії.

Матеріали та методи. Дослідження виконували, опрацьовуючи електронні й паперові джерела інформації про етіопатогенетичні чинники мастопатії,

концепцію розробки лікарських препаратів з модифікованим вивільненням АФІ, маркетинговий аналіз ринку лікарських препаратів та дієтичних добавок для лікування мастопатії.

Результати та їх обговорення. Першим етапом досліджень зі створення препарату для терапії мастопатії стало оцінювання перспективності розроблюваних препаратів з позицій сучасних підходів до лікування, а також присутності на фармацевтичному ринку України конкурентоспроможних аналогів.

Для дослідження було обрано групи лікарських засобів (ЛЗ), застосовуваних у лікуванні мастопатії, а саме: G Засоби, що впливають на сечостатеву систему та статеві гормони; G02 Інші гінекологічні засоби; G03 Гормони статевих залоз і препарати, що застосовують у разі патології статеві сфери; G03D A04 Прогестерон G.

До переліку груп дієтичних добавок (ДД) для лікування мастопатії відносять: 12. Дієтичні добавки до продуктів харчування, що впливають на гуморальні фактори регуляції обміну речовин; 12.3. Дієтичні добавки для зниження ризику функціональних порушень жіночих циклічних процесів [8, 12].

На фармацевтичному ринку України серед засобів для фармакокорекції мастопатії переважають ДД. Вони не проходять повний спектр випробувань і тому не можуть гарантувати пацієнтам безпеку, ефективність та відсутність побічних ефектів. На фармацевтичному ринку зареєстровано 36 найменувань ДД, більшість серед яких (56 %) становлять капсули. Серед країн-виробників лідирує Україна, яка пропонує 73 % ДД.

Лікарські препарати (ЛП) природного походження, застосовувані для комплексного лікування мастопатії, представлені 11-ма торговими назвами. Серед лікарських форм (ЛФ) переважають таблетки – 55 %, серед виробників – Біонорика СЕ (Німеччина) – 45 %.

ЛП синтетичного походження представлені 16-ма торговими назвами, серед яких переважають капсули – 69 %. Лідер серед країн-виробників – Іспанія (Лабораторіос Леон Фарма, С.А.) – 44 %. (рис. 1, 2).

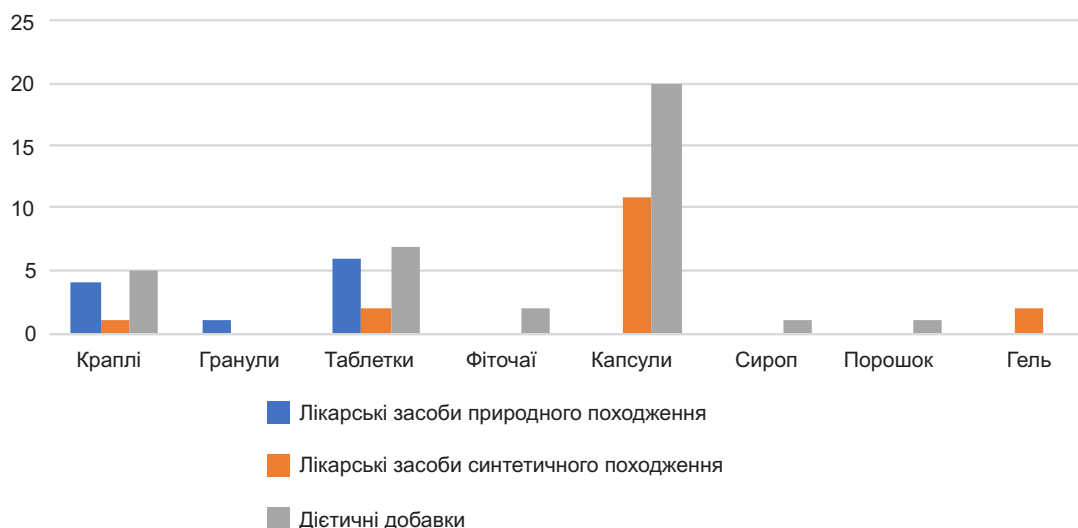


Рис. 1. Розподіл зареєстрованих ЛЗ природного і синтетичного походження та ДД за формами випуску

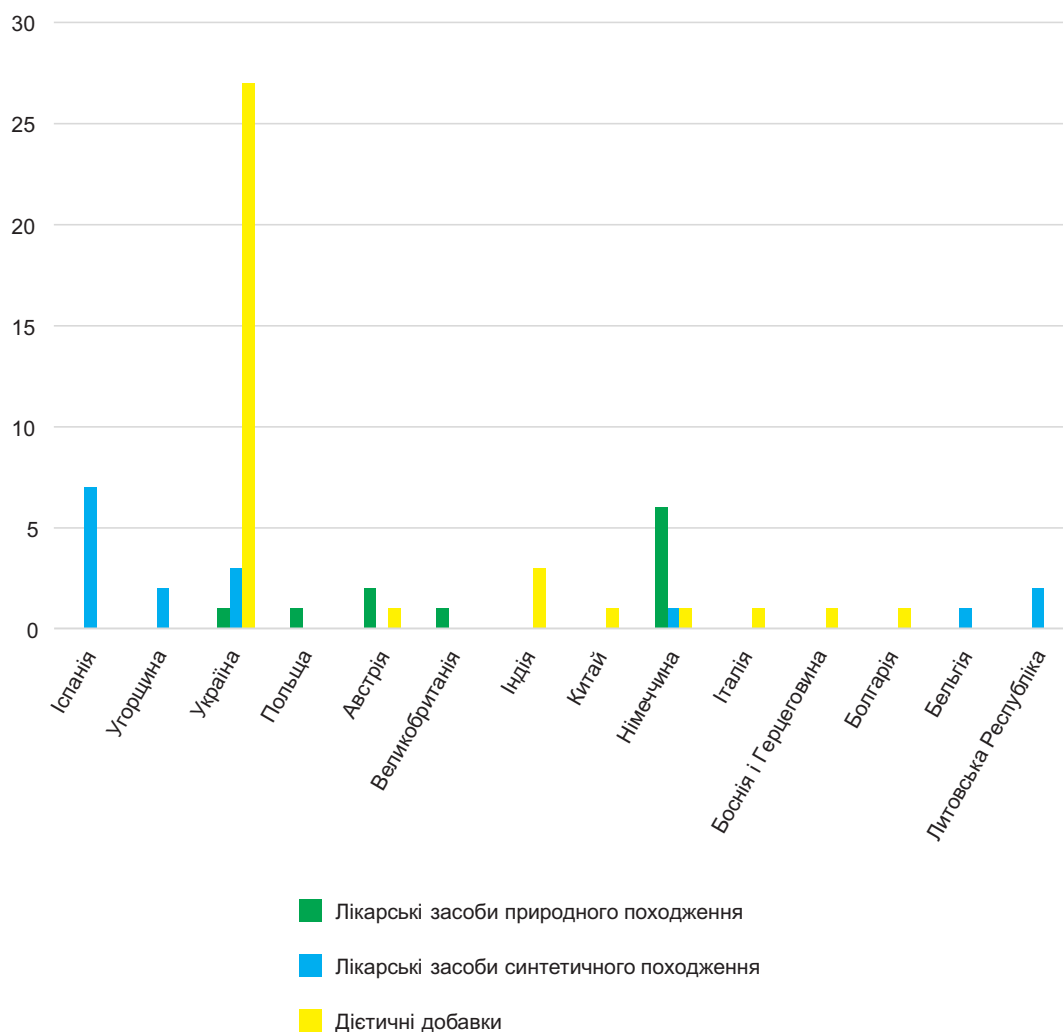


Рис. 2. Розподіл ЛЗ природного і синтетичного походження та ДД за країнами-виробниками

Результати аналізу Державного реєстру лікарських засобів України щодо наявності на фармацевтичному ринку України гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ для лікування мастопатії засвідчили відсутність такого виду лікарської форми [12].

На тлі вищевикладеного створення вітчизняного оригінального лікарського препарату у формі гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ, з можливістю тривалого вживання, належним рівнем контрольованої біологічної доступності є актуальним.

За принципом розподілення АФІ на носії тверді лікарські форми бувають монопартикулярні та мультипартикулярні. Мультипартикулярні ЛФ важчі у виробництві за монопартикулярні ЛФ, але мультипартикулярні форми зменшують ризик незапланованого вивільнення цілої дози АФІ. Тому мультипартикулярні форми застосовують, коли потрібен пролонгований або модифікований профіль вивільнення АФІ. Таблетки й капсули, які мають багатошарове та функціональне покриття, є прикладами мультипартикулярних форм. На думку закордонних учених, мультипартикулярні форми з модифікованим вивільненням стають більш популярними на фармацевтичному ринку. У пероральних системах доставки АФІ саме

функціональне покриття і відповідає за запрограмоване вивільнення препарату [13, 14].

Підхід до розробки складу й технологій ЛП залежить від мети лікування та обраної ЛФ.

Гранули з модифікованим вивільненням – гранули, вкриті оболонкою або без неї, що містять певні допоміжні речовини, які окремо або разом призначені для регулювання швидкості вивільнення діючих речовин. У розробці гранул із модифікованим вивільненням АФІ особливу увагу треба приділяти фізіологічним особливостям людини, наприклад, рН шлункового соку, моториці ШКТ, бо ці характеристики впливатимуть на всмоктування препаратів. Зазначені фактори треба обов’язково враховувати на етапі випробувань *in vitro* та *in silico* [9, 15].

Для забезпечення високої ефективності та нетоксичності гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ важливо теоретично й експериментально визначити всі фармацевтичні чинники, які впливають на якість лікарського препарату: фізико-хімічні характеристики діючих і допоміжних речовин (розчинність, плинність, ступінь дисперсності, склад), структурно-механічні властивості (пластичність, міцність, пружність, час розчинення, деформація), технологічні властивості (об’ємна щільність, ступінь ущільнення, сипкість, вологість, фракційний



Рис. 3. Вимоги до технологічного процесу виготовлення розроблюваного препарату

склад, дисперсність, здатність спресовуватися) та обладнання.

Біофармацевтичні дослідження модифікованого вивільнення активних речовин з гранул на основі фітоекстрактів мають велике значення для забезпечення терапевтичної ефективності ЛЗ. Ці дослідження охоплюють вивчення процесів всмоктування, часу розчинення, метаболізму речовин, взаємодії активних речовин і умов зберігання.

У розробці нових ЛЗ у формі гранул необхідно враховувати основні вимоги до технологічного процесу (рис. 3).

На підставі методологічного підходу до розробки гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим

вивільненням АФІ обґрунтовано та запропоновано план експериментальних досліджень (рис. 4).

Алгоритм методології складається з 9 етапів, кожен з яких закінчується отриманням проміжного результату й забезпечує постанову завдання для наступного етапу досліджень.

Перші 3 етапи створення нових ЛП базуються на аналізі електронних і паперових джерел інформації, що описують і вивчають етіологію, патогенез, класифікацію та механізми розвитку мастопатії молочної залози, принципи сучасної терапії з використанням ЛРС та фітосубстанцій; аналіз сучасного стану фармакотерапії захворювань грудної залози в жінок; маркетингові дослідження з насиченості



Рис. 4. Схема методологічного підходу до розробки гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ

вітчизняного ринку різними групами препаратів, що забезпечують етіопатогенетичне лікування; розгляд аналогів за складом і фармакотерапевтичним ефектом.

Наступний блок охоплює 3 етапи: обґрунтування вибору ЛФ, АФІ та способу їх введення до складу твердої ЛФ, визначення ефективної концентрації; розроблення оптимального складу, обґрунтування вибору ДР на підставі фізико-хімічних, біофармацевтичних та фармакотехнологічних досліджень; розроблення раціональної технології виробництва гранул на основі фітоекстрактів з модифікованим вивільненням АФІ у промислових умовах.

Завершальними етапами експериментальних досліджень є розроблення методик аналізу та визначення основних показників якості ЛФ; валідація технологічного процесу та методик стандартизації; апробація технології та контроль виробництва ЛП

у промислових умовах; доклінічні дослідження розробленого ЛЗ – токсикологічна характеристика, специфічна активність, мікробіологічна чистота ЛЗ; дослідження стабільності ЛЗ у процесі зберігання з метою визначення термінів придатності.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Проведено інформаційний пошук з вивчення етіології, патогенезу, клінічних проявів та фармакотерапії захворювань молочних залоз.

2. Запропоновано методологію створення гранул з модифікованим вивільненням АФІ на основі комплексу фітоекстрактів для лікування мастопатії.

3. Обґрунтовано план експериментальних досліджень щодо створення лікарського препарату у формі гранул на основі фітоекстрактів з контрольованим вивільненням діючих речовин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Malherbe K., Khan M., Fatima S. Fibrocystic Breast Disease. Florida : StatPearls Publishing, 2023. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31869073/> (Date of access: 01.11.2023).
2. Preliminary Results Supporting the Bacterial Hypothesis in Red Breast Syndrome following Postmastectomy Acellular Dermal Matrix- and Implant-Based Reconstructions / M. A. Danino et al. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2019. Vol. 144, № 6. P. 988e-992e. DOI: 10.1097/PRS.0000000000006227.
3. Orr B., Kelley J. L. 3rd. Benign breast diseases: evaluation and management. *Clin Obstet Gynecol*. 2016. Vol. 59, № 4. P. 710-726. DOI: 10.1097/GRF.0000000000000233.
4. Stachs A., Stubert J., Reimer T., Hartmann S. Benign breast disease in women. *Deutsches Arzteblatt international*. 2019. Vol. 116. № 33-34. P. 565-574. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0565.
5. Characterizing breast symptoms in family practice / M. M. Eberl et al. *Annals of Family Medicine*. 2008. Vol. 6, № 6. P. 528-533. DOI: 10.1370/afm.905.
6. Dyrstad S. W., Yan Y., Fowler A. M., Colditz G. A. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2015. Vol. 149, № 3. P. 569-575. DOI: 10.1007/s10549-014-3254-6.
7. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Онкоепідеміологічна ситуація та стан організації онкологічної допомоги в Україні, 2022-2023 рр. *Бюлетень національного канцер-реєстру України*. Київ, 2024. № 25. URL: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_25/index.htm (дата звернення: 22.10.2024).
8. Комpendіум 2019 - лікарські препарати / за ред. В. Н. Коваленко. Київ : МОПІОН, 2019. 2360 с.
9. Phuong H. L. Tran, Thao T. D. Tran. Dosage form designs for the controlled drug release of solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020. Vol. 581. P. 119274. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119274.
10. The Potential Role of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in Breast Cancer Treatment / V. Marín et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 13. P. 10737. DOI: 10.3390/ijms241310737.
11. Lopes C. M., Dourado A., Oliveira R. Phytotherapy and Nutritional Supplements on Breast Cancer. *BioMed Research International*. 2017. Vol. 2017. P. 7207983. DOI: 10.1155/2017/7207983.
12. Державний реєстр лікарських засобів України / МОЗ України. URL: <http://www.drz.kiev.ua> (Дата звернення: 28.09.2024).
13. Al-Hashimi N., Begg N., Alany R. G., Hassanin H., Elshaer A. Oral Modified Release Multiple-Unit Particulate Systems: Compressed Pellets, Microparticles and Nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2018. Vol. 10, № 4. P. 176. DOI: 10.3390/pharmaceutics10040176.
14. Єрхова А., Катинська М. Характеристика і обґрунтування використання пелет як сучасної лікарської форми на ринку України. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021. Т. 4, № 127. P. 92-98. DOI: 10.32345/USMYJ.4(127).2021.92-98.
15. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2015. Т. 1. 1128 с.

REFERENCES

1. Malherbe, K., Khan, M., Fatima, S. (2023). Fibrocystic Breast Disease. Florida: StatPearls Publishing. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31869073/>.
2. Danino, M. A., El Khatib, A. M., Doucet, O., Dao, L., Efanov, J. I., Bou-Merhi, J. S. et al. (2019). Preliminary Results Supporting the Bacterial Hypothesis in Red Breast Syndrome following Postmastectomy Acellular Dermal Matrix- and Implant-Based Reconstructions. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 144(6), 988e-992e. doi: 10.1097/PRS.0000000000006227.
3. Orr, B., Kelley, J. L. (2016). 3rd. Benign breast diseases: evaluation and management. *Clin Obstet Gynecol.*, 59(4), 710-726. doi: 10.1097/GRF.0000000000000233.
4. Stachs, A., Stubert, J., Reimer, T., Hartmann, S. (2019). Benign breast disease in women. *Deutsches Arzteblatt international.*, 116(33-34), 565-574. doi: 10.3238/arztebl.2019.0565.

5. Eberl, M. M., Phillips, R.L. Jr., Lamberts, H., Okkes, I., Mahoney, M. C. (2008). Characterizing breast symptoms in family practice. *Annals of Family Medicine*., 6(6), 528-533. doi: 10.1370/afm.905.
6. Dyrstad, S. W., Yan, Y., Fowler, A. M., Colditz, G. A. (2015). Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 149(3), 569-575. DOI: 10.1007/s10549-014-3254-6.
7. Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine. (2024 (25)). Morbidity, mortality, performance indicators of the oncology service. Onco-epidemiological situation and the state of the organization of oncology care in Ukraine, 2022-2023. Kyiv.
8. Compendium 2019 - medicinal products (2019) / Ed. V. N. Kovalenko. Kyiv: MORION.
9. Phuong, H. L., Tran, Thao, T. D. Tran (2020). Dosage form designs for the controlled drug release of solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, 581, 119274. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119274.
10. Marín, V., Burgos, V., Pérez, R., Durvanei, A. M., Pardi, P., Paz, C. (2023). The Potential Role of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in Breast Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*., 24(13), 10737. doi: 10.3390/ijms241310737.
11. Lopes, C. M., Dourado, A., Oliveira, R. (2017). Phytotherapy and Nutritional Supplements on Breast Cancer. *BioMed Research International*, 2017, 7207983. doi: 10.1155/2017/7207983.
12. MOZ Ukrainy. State Register of Medicinal Products of Ukraine. Available at: <http://www.drlz.kiev.ua>.
13. Al-Hashimi, N., Begg, N., Alany, R. G., Hassanin, H., Elshaer, A. (2018). Oral Modified Release Multiple-Unit Particulate Systems: Compressed Pellets, Microparticles and Nanoparticles. *Pharmaceutics*, 10(4), 176. doi: 10.3390/pharmaceutics10040176.
14. Yerkhova, A., Katynska, M. (2021). Characteristics and justification of the use of pellets as a modern dosage form on the market of Ukraine. *Ukrainian Scientific and Medical Youth Journal*, 4(127), 92-98.
15. State pharmacopoeia of Ukraine (2015). State enterprise «Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicinal Products». Kharkiv: Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv».

Відомості про авторів:

Зуйкіна С. С., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7546-6062>

Паливода П. В., аспірантка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: ppalyvoda99@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2564-9952>

Information about authors:

Zuykina S. S., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Pharmacy Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7546-6062>

Palyvoda P. V., postgraduate student of the Department of Pharmacy Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: ppalyvoda99@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2564-9952>

Надійшла до редакції 07.10.2024 р.

УДК 615.451.16:615.014.2:582.632.2

<https://doi.org/10.24959/nphj.24.159>

М. В. Буряк, Л. І. Вишнеvsька

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Експериментальне обґрунтування основних параметрів екстракції трави гайлардії пульчела (*Gaillardia pulchella* L.)

У структурі фармацевтичного ринку зростає частка препаратів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС). Тому створення стандартизованої вітчизняної субстанції природного походження – рідкого екстракту трави гайлардії, а також розробка на його основі нових лікарських препаратів є актуальним завданням.

Мета наших досліджень – вивчити вплив екстрагента на вихід біологічно активних речовин з трави гайлардії та експериментально обґрунтувати основні параметри рослинної сировини.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стала трава гайлардії, зібрана у фазі цвітіння на базі Ботанічного саду Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка (м. Полтава) у липні та серпні 2022-2023 рр., висушена повітряно-тіньовим методом і подрібнена методом вальцювання. Подрібнену сировину просіювали крізь сито з розміром отворів 10 мм. Просів використовували для подальших досліджень. Фармакотехнологічні показники досліджували за стандартними методиками ДФУ.

Результати та їх обговорення. Комплекс діючих речовин трави гайлардії представлений переважно водорозчинними БАР, тому необхідно було вибрати розчинник, який би якомога повніше вилучав з сировини зазначену групу речовин. Одержані експериментальні дані свідчать, що за здатністю екстрагувати комплекс БАР з трави гайлардії перевагу має вода очищена, яка забезпечує максимальний вихід екстрактивних речовин. Наступним етапом наших досліджень стало визначення кратності екстракції на основі отриманого максимального виходу екстрактивних речовин. Кожну з витяжок відбирали фракційно з кроком DER 1:1 (drug extract ratio – відношення вихідного матеріалу до одержаного екстракту). Згідно з отриманими даними, кількість екстрактивних речовин, що переходять за екстрагування у витяжку, зростає поступово до 5 зразка. Аналізуючи витяжки від 6 до 10, можемо констатувати, що кількість екстрактивних речовин та сухого залишку змінюється незначною мірою; перколяція з отриманням витяжок більше 5 призведе до збільшення витрат екстрагента і зменшення виходу діючих речовин на весь об'єм екстрагента.

Висновки. На підставі результатів проведених досліджень визначено технологічні параметри трави гайлардії (об'ємна маса – $0,453 \pm 0,016$ г/см³; насипна маса – $0,071 \pm 0,001$ г/см³, питома маса – $1,214 \pm 0,032$ г/см³, коефіцієнт водопоглинання – $1,68 \pm 0,08$). Експериментально доведено, що за екстрагування водою очищеною максимальний вихід екстрактивних речовин наявний у другому об'ємі, їх вихід відбувається плавно, без різких коливань концентрацій (на відміну від 40 і 70 % етанолу). Тому як ефективний екстрагент для одержання екстракту визначено саме воду очищену. У результаті проведених фармакотехнологічних дослідів визначено ефективну кратність екстракції трави гайлардії, що дорівнює 5. Отримані дані є вагомими для розробки технології рідкого екстракту з трави гайлардії та вибору обладнання для його одержання.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина; трава гайлардії; фільтраційна екстракція; екстрактивні речовини; фармацевтичні чинники

M. V. Buryak, L. I. Vishnevskaya

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The experimental substantiation of the main parameters of the extraction of gaillardia herb (*Gaillardia pulchella* L.)

In the structure of the pharmaceutical market, the share of drugs based on the medicinal plant raw material (MPRM) is growing. Therefore, it is relevant to create a standardized domestic substance of natural origin – a liquid extract of gaillardia herb (*Gaillardia pulchella* L.) and develop new medicines based on it.

Aim. To obtain a liquid extract by experimentally substantiating the main parameters of gaillardia herb extraction.

Materials and methods. The study object was the raw material of gaillardia herb collected in the flowering phase at the Botanical Garden of the Poltava National Pedagogical University named after V. G. Korolenko (Poltava) in July and August 2022-2023, dried by the air-shade method and crushed by the rolling method. The crushed raw material was sifted through a sieve with a hole size of 10 mm. The millet was used for further research. The study of pharmacotechnological indicators was carried out according to the standard methods of the SPbU.

Results and discussion. Since the complex of active substances of gaillardia herb was mainly represented by water-soluble BAS, it was necessary to choose a solvent that would remove this group of substances from the raw material as completely as possible. The experimental data obtained show that the ability to extract the BAS complex from gaillardia herb is preferred by purified water, which provides the maximum yield of extractive substances. The next stage of our research was to study the determination of the multiplicity of extraction, based on the determination of the maximum yield of extractive substances. Each of the extracts was selected fractionally with a step of DER 1:1 (drug extract ratio – the ratio of the starting material to the resulting extract). According to the data obtained, the amount of extractives passing during the extraction into the hood increases gradually up to 5 samples. Analyzing extracts from 6 to 10, it can be seen that the amount of extractives and a dry residue varies slightly; percolation with the extraction

of more than 5 will lead to an increase in the consumption of the extractant and a decrease in the yield of active substances for the entire volume of the extractant.

Conclusions. Based on the results of the studies conducted, the technological parameters of gaillardia herb have been determined (the volume mass – $0.453 \pm 0.016 \text{ g/cm}^3$; the bulk mass – $0.071 \pm 0.001 \text{ g/cm}^3$, the specific gravity – $1.214 \pm 0.032 \text{ g/cm}^3$, the water absorption coefficient – 1.68 ± 0.08). It has been experimentally proven that when extracting with purified water, the maximum yield of extractive substances is observed in the second volume, the yield of extractive substances is smooth, without sharp fluctuations in concentrations (in contrast to 40 and 70% ethanol). Therefore, the studies have determined an effective extractant for obtaining the extract, namely purified water. As a result of the pharmaco-technological tests conducted, the effective multiplicity of gaillardia herb extraction has been determined, which is equal to 5. The data will be taken into account when developing the technology of a liquid extract from gaillardia herb and choosing equipment for its production.

Key words: medicinal plant raw material; gaillardia herb; filtration extraction; extractive substances; pharmaceutical factors

Вступ. У структурі фармацевтичного ринку зростає частка препаратів на основі лікарської рослинної сировини (ЛРС). Переваги фітопрепаратів зумовлені тим, що їхні природні компоненти містять комплекси біологічно активних речовин (БАР) у певних співвідношеннях, сформованих у рослинах у процесі еволюції, що забезпечує високу біодоступність препаратів та більшу фізіологічну адекватність до людського організму. Тому разом із пошуком нових лікарських рослин триває і поглиблене вивчення сировини, традиційно культивованої людьми [1]. Такі дослідження спрямовані насамперед на визначення будови БАР і розроблення сучасних методик стандартизації рослинної сировини [1-3].

Однією з таких рослин є гайлардія пульчела, вид рослин з родини Айстрових (Asteraceae), поширений у Канаді й США. В Україні її широко культивують як декоративну рослину. Основними БАР трави гайлардії є сесквітерпенові лактони, аглікони та глікозильовані флавоноїди, дигідроксифлавонол і 6-метоксифіри, макро- та мікроелементи [2, 3].

Комплекс БАР дозволяє прогнозувати фармакологічну дію: антимеланогенну, седативну та антиоксидантну. Експериментальні та клінічні дані свідчать, що препарати з трави гайлардії володіють широким спектром фармакологічних ефектів, зокрема седативним, спазмолітичним, гіпотензивним, гепатопротекторним та антиоксидантним [1-5].

Отже, створення стандартизованої вітчизняної субстанції природного походження – рідкого екстракту трави гайлардії, а також розробка на його основі нових лікарських препаратів є актуальним завданням.

Метою наших досліджень стало експериментальне вивчення впливу екстрагента на вихід БАР з трави гайлардії та визначення технологічних параметрів шару сировини, що лежать в основі розробки раціонального методу екстракції рослинної сировини.

Матеріали та методи. Об'єктом наших досліджень була трава гайлардії, зібрана у фазі цвітіння на базі Ботанічного саду Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка (м. Полтава) у липні та серпні 2022-2023 рр., висушена повітряно-тіньовим методом і подрібнена методом вальцювання. Подрібнену сировину просіювали крізь сито з розміром отворів 10 мм. Просів використовували для подальших досліджень.

Фармакотехнологічні показники досліджували за стандартними методиками ДФУ.

Кількісний вміст сухого залишку A_n розраховували за формулою:

$$A_n = \frac{\omega_n \times V_n}{100},$$

де: V_n – об'єм окремо зібраної порції рідкої витяжки, одержаної з кроком DER 1:1, мл;

ω_n – сухий залишок в окремо зібраній порції рідкої витяжки n , %.

Вміст сухого залишку B_n в сумарних рідких витяжках V_{n+1} , одержаних за відповідного співвідношення сировини й екстрагента, тобто DER на стадії, визначали за формулою:

$$B_n = \sum_{n=1}^n A_n,$$

де A_n – сухий залишок в окремо зібраній порції рідкої витяжки V_n , г.

Вміст сухого залишку C_n в сумарних рідких витяжках V_{n+1} , одержаних за відповідного співвідношення DER на стадії, визначали за формулою:

$$C_n = \frac{B_n}{V_{n+1}} \times 100,$$

де: V_{n+1} – об'єм сумарної рідкої витяжки на стадії, мл;

B_n – вміст сухого залишку в сумарних рідких витяжках V_{n+1} , г.

Кількість вилучених екстрактивних речовин (абсолютно сухого екстракту) D_n з екстрагованої рослинної сировини на кожній зі стадій екстрагування за відповідного DER розраховували за формулою:

$$D_n = \frac{B_n}{m_c} \times 100,$$

де: m_c – маса рослинної сировини, використаної для екстрагування, г;

B_n – вміст сухого залишку в сумарних рідких витяжках V_{n+1} , г.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за методикою, наведеною в ДФУ, у розділі «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» [6].

Результати та їх обговорення. Першим етапом наших досліджень стало визначення основних фармакотехнологічних показників трави гайлардії (табл. 1).

Виробництво екстрактів різної консистенції розпочинають з отримання витяжки з ЛРС [7]. Цей етап технології є одним із найважливіших у процесі отримання екстракту. Сьогодні фармацевтичні підприємства використовують різні способи одержання витяжок. У загальному вигляді їх можна класифікувати на статичні й динамічні. Відповідно до розвитку виробництва та проведення досліджень з'являються нові способи екстракції, їх апаратурне оформлення та засоби інтенсифікації процесу екстрагування [7-9]. На сьогодні накопичено великий досвід з впровадження нових методів, які сприяють інтенсифікації масообміну в системі тверде тіло – рідина. Одним із таких методів є метод фільтраційної екстракції, який дозволяє використовувати в процесі екстракції більш тонко подрібнену сировину (розмір частинок 0,02-1 мм), різко зменшити час екстракції (до 5-6 годин), підвищити вихід діючих речовин (до 90 % від вмісту в сировині) та отримати висококонцентровані витяжки (до 30 % від сухого залишку). Метод заснований на принципах розчинення і фронтального змиву речовин із високо розвинутої поверхні подрібненого рослинного матеріалу в динамічно нерівноважних умовах.

Отже, метод фільтраційної екстракції забезпечує максимальне і спрямоване вилучення БАР з сировини в поєднанні з високою швидкістю процесу.

Наступним етапом нашої роботи стало визначення оптимального екстрагента, що вивільняє максимальну кількість екстрактивних речовин. Вибір екстрагента має велике значення в технології фітохімічних препаратів, адже основна функція цього розчинника полягає в тому, щоб максимально вилучити із сировини біологічно активні речовини і мінімально – баластні речовини. Екстрагент добирають залежно від природи діючих речовин у сировині та ступеня їх гідрофільності. Тому для кожної окремої ЛРС індивідуально добирають відповідний екстрагент [6]. З метою визначення оптимального екстрагента для вилучення максимальної кількості БАР із трави гайлардії було розглянуто низку розчинників. Комплекс діючих речовин трави гайлардії представлений переважно водорозчинними БАР, тому необхідно було вибрати розчинник, який би якомога повніше вилучав

із сировини зазначену групу речовин. Беручи до уваги ці чинники як критерії вибору екстрагента діючих речовин з трави гайлардії, ми зупинилися на воді очищеній та етанолі різної концентрації.

Екстракцію проводили за допомогою лабораторного перколятора. Для замочування та настоювання використовували від 50 до 60 % екстрагента щодо маси сировини. Після перемішування сировину в закритій ємності залишали на 12 год, упродовж яких було досягнуто рівноважну концентрацію. Зверху притискали перфорованим диском і заливали екстрагентом так, щоб максимально витиснути повітря до отримання ефекту «дзеркала». Висота шару екстрагента над сировиною становила близько 50 мм. Із цим насичена витяжка витісняла екстрактивні речовини з рослинного матеріалу потоком свіжого екстрагента і створювала різницю концентрацій речовин, що екстрагуються. Перколяцію закінчували одержанням п'яти об'ємів витяжки щодо маси завантаженої сировини [7, 8].

Температура процесу становила 20-25 °С. В отриманій витяжці визначали кількість екстрактивних речовин, використовуючи методику ДФУ [6]. Результати наведено в табл. 2 та на рис. 1.

Отримані експериментальні дані, наведені в табл. 2, свідчать, що за здатністю екстрагувати БАР з трави гайлардії незначну перевагу має етанол 40 %, який забезпечує максимальний вихід зазначених сполук – $16,30 \pm 0,27$ %. Порівнявши дані, отримані за екстракції 40, 60 та 70 % етанолом, можемо висувати, що зі збільшенням концентрації етанолу зменшується вихід екстрактивних речовин.

Як видно з рис. 1, за екстрагування водою очищеною максимальний вихід екстрактивних речовин наявний у другому об'ємі, вихід БАР відбувається плавно, без різких коливань концентрацій (на відміну від 40 і 70 % етанолу). За екстракції 40 та 70 % етанолом максимальний вихід екстрактивних речовин наявний у першому об'ємі витяжки, потім вихід БАР різко знижується.

Тобто одержані експериментальні дані свідчать, що за здатністю екстрагувати комплекс біологічно активних речовин з трави гайлардії перевагу має вода очищена, яка забезпечує максимальний вихід екстрактивних речовин.

На підставі вищевикладеного як екстрагент обрали воду очищену. Вибір цього екстрагента зумовлено також його технологічними характеристиками

Таблиця 1

Основні фармакотехнологічні показники сировини

Досліджувані параметри	Показники
Об'ємна маса, г/см ³	0,453 ± 0,016
Насипна маса, г/см ³	0,071 ± 0,001
Питома маса, г/см ³	1,214 ± 0,032
Коефіцієнт водопоглинання	1,68 ± 0,08
Втрата маси під час висушування	Не більше 12 %

Таблиця 2

Вплив екстрагента на вихід екстрактивних речовин

Розчинник	Екстрактивні речовини, %
Вода очищена	15,36 ± 0,24
Етанол 20 %	15,89 ± 0,24
Етанол 40 %	16,30 ± 0,27
Етанол 60 %	14,12 ± 0,27
Етанол 70 %	12,40 ± 0,21

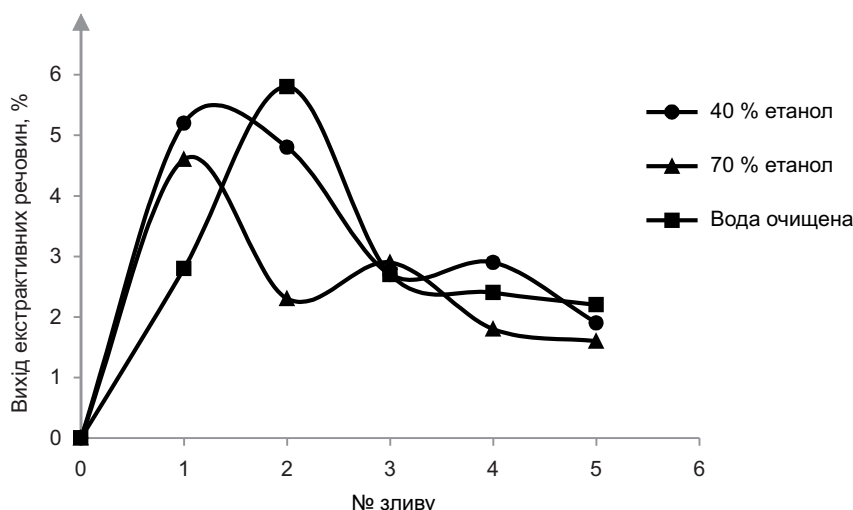


Рис. 1. Вплив екстрагента на вихід екстрактивних речовин із сировини трави гайлардії

(високою здатністю до змочування, що забезпечує добре проникнення крізь пори сировини) та порівняною дешевизною і доступністю.

Наступним етапом наших досліджень стало визначення кратності екстракції на основі отриманого максимального виходу екстрактивних речовин.

Кожну з витяжок відбирали фракційно з кроком DER 1:1 (drug extract ratio – відношення вихідного матеріалу до одержаного екстракту).

Вміст сухого залишку (A_n , г) в окремих порціях рідких екстрактів V_n ; вміст сухого залишку (B_n , г) в сумарних екстрактах V_{n+1} , одержаних екстрагентом за відповідного співвідношення сировина : екстрагент; вихід екстрактивних речовин (абсолютно сухого екстракту) (D_n , %) з екстрагованої сировини на кожній зі стадій екстрагування певним екстрагентом за відповідного співвідношення сировина : екстрагент розраховували за методикою, наведеною вище. Зміни визначених критеріїв оцінювання процесу в динаміці залежно від типу використання екстрагента наведено в табл. 3 та на рис. 2.

Згідно з отриманими даними, кількість екстрактивних речовин, що переходять за екстрагування у витяжку, зростає поступово до 5 зразка. Аналізуючи витяжки від 6 до 10, можемо констатувати, що кількість екстрактивних речовин та сухого залишку змінюється незначною мірою; перколяція з отриманням витяжок більше 5 призведе до збільшення витрат екстрагента і зменшення виходу діючих речовин на весь об'єм екстрагента.

Як видно з рис. 2, між виходом екстрактивних речовин та кількістю зливів наявна нелінійна залежність. Максимальний вихід екстрактивних речовин фіксуємо в 1 злив, далі вихід БАР плавно знижується. Зважаючи на ці дані, можемо висувати, що вилучення відбувається найбільш активно за отримання перших п'яти зливів, потім активність екстрагування зменшується. Збільшення кількості зливів до 10 не супроводжується пропорційним сумарним збільшенням виходу екстрактивних речовин. Сумарний вихід екстрактивних речовин у п'яти зливах дорівнює 16,02 %, що складає 92 % від загального вмісту екстрактивних речовин у сировині.

Таблиця 3

Визначення виходу екстрактивних речовин у витяжку

№	DER	Об'єм окремої порції екстракту V_n , мл	Об'єм сумарного екстракту V_{n+1} стадії, мл	Вміст сухого залишку, ω_n , %	Вміст сухого залишку, A_n , г	Вміст сухого залишку, B_n , г	Вміст сухого залишку, C_n , %	Вихід екстрактивних речовин, D_n , %
1	1:1	50	50,00	7,70	3,85	3,85	7,70	7,70
2	1:2	50	100,00	6,42	3,21	7,06	7,06	14,12
3	1:3	50	150,00	5,98	2,99	10,05	6,70	20,10
4	1:4	50	200,00	4,10	2,05	12,10	6,05	24,20
5	1:5	50	250,00	2,50	1,25	13,35	6,34	26,70
6	1:6	50	300,00	1,60	0,80	14,15	4,72	28,30
7	1:7	50	350,00	1,02	0,51	14,66	4,19	29,32
8	1:8	50	400,00	0,64	0,32	14,98	3,75	29,96
9	1:9	50	450,00	0,42	0,21	15,19	3,38	30,38
10	1:10	50	500,00	0,18	0,09	15,28	3,06	30,56

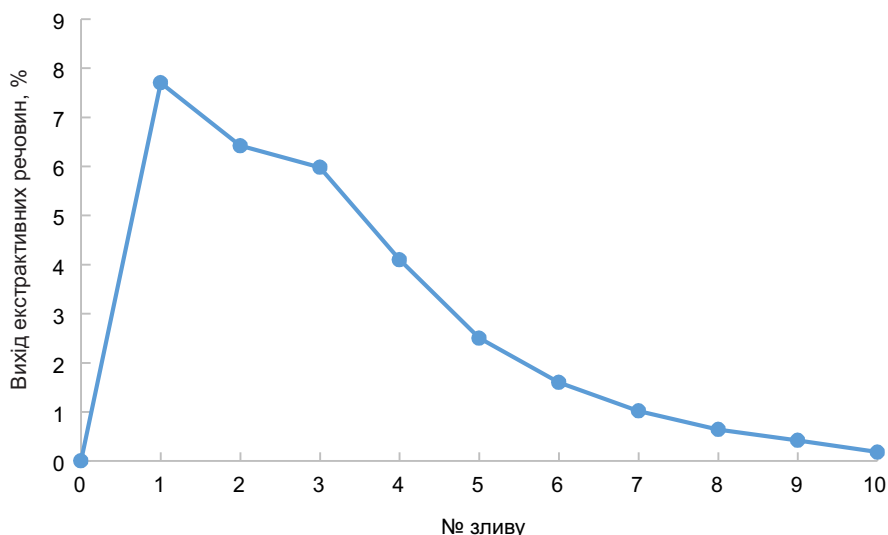


Рис. 2. Кінетична крива виходу екстрактивних речовин із сировини трави гайлардії

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. На підставі результатів проведених досліджень визначено технологічні параметри трави гайлардії (об'ємна маса – $0,453 \pm 0,016$ г/см³; насипна маса – $0,071 \pm 0,001$ г/см³, питома маса – $1,214 \pm 0,032$ г/см³, коефіцієнт водопоглинання – $1,68 \pm 0,08$).

2. Експериментально доведено, що за екстрагування водою очищеною максимальний вихід екстрактивних речовин наявний в другому об'ємі, вихід БАР відбувається плавно, без різких коливань

концентрацій (на відміну від 40 і 70 % етанолу). Тому як ефективний екстрагент для отримання екстракту визначено воду очищену.

3. У результаті проведених фармакотехнологічних досліджень визначено ефективну кратність екстракції трави гайлардії, що дорівнює 5. Отримані дані є вагомими для подальших досліджень, зокрема розроблення технології рідкого екстракту з трави гайлардії та вибору обладнання для його одержання.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Jadhav T., Bihani G. V., Biyani K. R. A review on gaillardia pulchella. *World journal of pharmaceutical and medical research*. 2022. Vol. 8, № 11. P. 111-114.
- Simonsen Sesquiterpene lactones from Gaillardia pulchella / Yu. Sanggong et al. *Phytochemistry*. 1988. Vol. 27, № 9. P. 2887-2891.
- New Apigenin Glycoside, Polyphenolic Constituents, Anti-inflammatory and Hepatoprotective Activities of *Gaillardia grandiflora* and *Gaillardia pulchella* Aerial Parts / F. A. Moharram et al. *Pharmacogn Mag*. 2017. Vol. 13, № 2. P. S244-S249. DOI: 10.4103/pm.pm_344_16.
- Gupta A., Naraniwal M., Kothari V. Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural*. 2012. Vol. 1, № 1. P. 8-26.
- Фармакогнозія : базовий підруч. для студентів вищ. фармацев. навч. закл. (фармац. ф-ів) IV рівня акредитації / В. С. Кисличенко та ін. ; за ред. В. С. Кисличенко. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2015. 736 с.
- Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармацевтичний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармацевтичний центр якості лікарських засобів», 2015. 1002 с.
- Дослідження з розробки рідкого екстракту бронхолітичної дії / О. С. Кухтенко та ін. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2018. Т. 4, № 4. С. 12–18. DOI: 10.24959/sphhcj.18.134.
- Дослідження з розробки рідкого екстракту кардіотонічної дії / О. С. Кухтенко та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 3. С. 41-48. DOI: 10.32352/0367-3057.3.19.05.
- Вишневецька Л. І., Шмалько О. О., Солдатов Д. П. Дослідження з розробки багатокомпонентного екстракту урохолуму сухого та його фармакотехнологічних показників. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2019. № 2 (58). С. 16-21. DOI : 10.24959/UEKJ.19.19.

REFERENCES

- Tushar Jadhav, Bihani, G. V., Biyani K. R. (2022). A review on gaillardia pulchella. *World journal of pharmaceutical and medical research*, 8(11), 111-114.
- Sanggong, Yu, Nianbai, Fang, Mabry, T. J., Abboud, K. A., Stanley, H. (1988). Simonsen Sesquiterpene lactones from Gaillardia pulchella. *Phytochemistry*, 27(9), 2887-2891.
- Moharram, F. A., Raem, El Dib, Marzouk, M. S., El-Shenawy, S. M., Ibrahim, H. A. (2017) New Apigenin Glycoside, Polyphenolic Constituents, Anti-inflammatory and Hepatoprotective Activities of *Gaillardia grandiflora* and *Gaillardia pulchella* Aerial Parts. *Pharmacogn Mag*, 13(2), S244-S249. doi: 10.4103/pm.pm_344_16.
- Gupta, A., Naraniwal, M., Kothari, V. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural*, 1(1), 8-26.

5. Kyslychenko, V. S., Zhuravel, I. O., Marchyshyn, S. M., Minarchenko, V. M., Khvorost O. P. (2015). Farmakohnoziia : bazovyi pidruch. dlia studentiv vyshch. farmats. navch. zakl. (farmats. f-iv) IV rivnia akredytatsii. Kharkiv: NFaU: Zoloti storinky.
6. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy*. (2015). (2-e vyd.). Kharkiv: Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmatsevtichnyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv».
7. Kukhtenko, O. S., Bevz, N. Yu., Hladukh, Ye. V., Kukhtenko, H. P. (2018). Doslidzhennia z rozrobky ridkoho ekstraktu bronkholytychnoi dii. *Sotsialna farmatsiia v okhoroni zdorovia*, 4(4), 12-18. doi: 10.24959/sphhcj.18.134.
8. Kukhtenko, O. S., Bevz, N. Yu., Hladukh, E. V., Kukhtenko H. P. (2019). Doslidzhennia z rozrobky ridkoho ekstraktu kardiotonichnoi dii. *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 3, 41-48. doi: 10.32352/0367-3057.3.19.05.
9. Vyshnevskia, L. I., Shmalko, O. O., Soldatov, D. P. (2019). Doslidzhennia z rozrobky bahatokomponentnoho ekstraktu urokholumu sukhoho ta yoho farmakotekhnolohichnykh pokaznykiv. *Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii*, 2(58), 16-21. doi : 10.24959/uekj.19.19.

Відомості про авторів:

Буряк М. В., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: marinaburjak@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6671-9662>

Вишневська Л. І., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувачка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: liliavyshnevskia@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Information about the authors:

Buryak M. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor, of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: marinaburjak@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6671-9662>

Vyshnevskia L. I., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Pharmacy Drug Technology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: liliavyshnevskia@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Надійшла до редакції 24.10.2024 р.

О. О. Богатирьова, О. І. Набока

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Дослідження токсикологічного профілю лаванди вузьколистої трави екстрактів сухих

Мета роботи – вивчення гострої токсичності лаванди вузьколистої трави екстрактів сухих українського походження.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були експериментальні тест-зразки: тест-зразок № 1 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водою очищеною; тест-зразок № 2 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином (40 % етанолом); тест-зразок № 3 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином (70 % етанолом). З метою відтворення клініки гострого отруєння і для визначення LD_{50} гостру токсичність тест-зразків вивчали на статевозрілих білих мишах масою 19-21 г в умовах одноразового внутрішньошлункового введення. За тваринами спостерігали протягом 2 тижнів, що дає можливість оцінити токсичну дію досліджуваних екстрактів лаванди на організм експериментальних тварин. Спостерігали за масою (вихідні дані, 3, 7 і 14 доба), за поведінкою тварин після введення тест-зразків (зокрема за зовнішнім виглядом, диханням, слиновиділенням, сечовипусканням, екскрементами, споживанням кормів), за добовим споживанням корму та води на 7 та 14 добу. Макроскопічне дослідження передбачало зовнішній огляд тварин, огляд внутрішніх органів грудної (серце, легені, тимус) та черевної порожнини (печінка, селезінка, нирки, наднирники, сім'яники/яєчники). Для статистичної обробки отриманих даних (маса тіла) використовували середнє арифметичне значення та його стандартну похибку; достовірність розбіжностей між вибірками оцінювали за допомогою ANOVA RM та критерію Данета. Порівнювали з групою негативного контролю. Показники коефіцієнтів маси внутрішніх органів зображали у вигляді медіани, верхньої та нижньої кватилів. Достовірність розбіжностей між вибірками оцінювали за методом Крускала-Волліса та критерієм Мана-Вітні, порівнюючи з групою негативного контролю.

Результати та їх обговорення. Експериментально доведено, що внутрішньошлункове введення сухих екстрактів з трави лаванди в дозі 5000 мг/кг не призводило до летальності та не впливало на загальнотрофічні процеси тварин. Макроскопічний огляд внутрішніх органів та аналіз показників коефіцієнтів їхньої маси підтвердив, що внутрішньошлункове одноразове введення тест-зразків екстрактів лаванди не призводить до патологічних змін як у самців, так і в самиць. Коефіцієнти маси органів були в межах норми й не мали статистично значущих відмінностей проти показників групи негативного контролю.

Висновки. Результати проведеного дослідження продемонстрували, що одноразове внутрішньошлункове введення тест-зразків лаванди в дозі 5000 мг/кг не призводило до патологічних змін фізіологічного стану мишей, що дозволяє віднести досліджувані екстракти до V класу практично не токсичних речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

Ключові слова: гостра токсичність; миші; лаванда вузьколиста; сухі екстракти

О. О. Bogatyrova, O. I. Naboka

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The study of the toxicological profile of dry extracts of narrow-leaved lavender herb

Aim. To study the acute toxicity of narrow-leaved lavender (*Lavandula angustifolia*) herb dry extracts of Ukrainian origin.

Materials and methods. The study objects were experimental test samples: test sample No. 1 – a dry extract of narrow-leaved lavender herb obtained by extraction with purified water; test sample No. 2 – a dry extract of narrow-leaved lavender herb obtained by extraction with a water–ethanol solution (40 % ethanol); test sample No. 3 – a dry extract of narrow-leaved lavender herb obtained by extraction with a water–ethanol solution (70 % ethanol). To reproduce the clinic of acute poisoning and determine LD_{50} , the acute toxicity of test samples was studied on sexually mature white mice weighing 19-21 g under the conditions of a single intragastric administration. The animals were observed for 2 weeks, which made it possible to assess the toxic effect of the lavender extracts studied on the body of experimental animals. The weight (initial data, 3, 7 and 14 days), the behavior of animals after the introduction of test samples (appearance, respiration, salivation, urination, excreta, feed consumption by animals) were monitored by daily feed and water consumption – on days 7 and 14. The macroscopic examination included the external examination of animals, the examination of internal organs of the chest (heart, lungs, thymus) and abdominal cavities (liver, spleen, kidneys, adrenal glands, testes/ovaries). For statistical processing of the data obtained (body weight), the arithmetic average value and its standard error were used; the reliability of discrepancies between samples was assessed using ANOVA RM and the Dunnet criterion. Comparisons were made with the negative control group. Indicators of the mass coefficients of internal organs were presented in the form of the median, upper and lower quartiles. The reliability of discrepancies between samples was assessed using the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test compared to the negative control group.

Results and discussion. It was experimentally proven that intragastric administration of dry extracts from lavender herb in the dose of 5000 mg/kg did not lead to lethality and did not affect the general trophic processes of animals.

The macroscopic examination of internal organs and analysis of their mass coefficients confirmed that a single intragastric administration of test samples of lavender extracts did not lead to pathological changes in both males and females. The organ mass coefficients were within the normal range and had no statistically significant differences compared to animals in the negative control group.

Conclusions. The results of the study have demonstrated that a single intragastric administration of test samples of lavender in the dose of 5000 mg/kg does not lead to pathological changes in the physiological state of mice, which allows to attribute the extracts studied to class V of practically non-toxic substances ($LD_{50} > 5000$ mg/kg).

Keywords: acute toxicity; mice; narrow-leaved lavender; dry extracts

Вступ. Лаванда – вічнозелений чагарник з роду родини Глухокропівових (Lamiaceae). Лаванда поширена здебільшого в районі Середземномор'я, як окультурений вид її вирощують також в Австралії, Сполучених Штатах Америки та Японії. В Україні росте в дикому стані, а як ефіроолійну рослину її вирощують у Криму, зокрема на південному узбережжі [1]. Росте у вигляді кущів діаметром від 40 до 90 см, заввишки від 50 до 120 см, характеризується насиченим цвітінням блакитного, фіолетового, рожевого або білого кольору, що залежить від сорту та виду рослини. Існує три види лаванди (вузьколиста, широколиста та гібрид цих двох видів), сортів – понад тридцять. Фітохімічні дослідження засвідчили, що основними компонентами лаванди є ліналоол, ліналілацетат, камфора, ендоборнеол і 1,8-цинеол [2, 3]. З квіток лаванди отримують цінну лавандову олію, яку широко використовують у парфумерії та медицині [4].

Про медичне використання *L. angustifolia* відомо ще з римських і грецьких часів [5]. В експериментальних дослідженнях рослини доведено її снодійну [6], спазмолітичну [7], протисудомну (Yamada та ін., 1994), анестетичну (Ghelardini та ін., 1999), сечогінну [8], антидепресивну та анкіолітичну дію [9], а також протидисліпідемічну [10], кардіопротекторну [11], болезаспокійливу та протизапальну [12], ранозагоювальну [13], інсектицидну [14], антипроліферативну, антимікробну та антиоксидантну [15] властивості різних екстрактів та ефірної олії *L. angustifolia*. Є повідомлення про широке терапевтичне використання рослини як альтернативної медицини, ефективної для широкого спектра захворювань [16, 17]. На сьогодні відомі здебільшого нейротропні властивості препаратів лаванди. Зокрема, у китайській традиційній медицині екстракт трави лаванди застосовують як нейропротекторний засіб і вважають його ефективним у лікуванні хвороби Альцгеймера [18].

Проте повідомлення про токсикологічні дослідження лаванди дуже обмежені. У розробці нових лікарських засобів оцінка токсичних властивостей речовини має вирішальне значення для захисту громадського здоров'я, бо вплив хімічних речовин може призвести до негативних наслідків для людини [19]. Крім того, на етапі доклінічних досліджень визначення параметрів гострої токсичності допомагає ухвалити рішення про доцільність подальшого вивчення нової речовини [20]. Дослідження гострої токсичності на відповідних моделях тварин є невід'ємною частиною вивчення токсикологічного профілю нових субстанцій та лікарських засобів [21, 22].

З огляду на вищезазначене метою роботи стало вивчення гострої токсичності лаванди вузьколистої трави екстрактів сухих українського походження, отриманих на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (НФаУ) аспіранткою В. О. Гуриною під керівництвом професора В. А. Георгіянец. В екстрактах ідентифіковано терпеноїди (ліналоол, ліналілацетат та сліди 1,8-цинеолу), флавоноїди (гіперозид, ізокверцитрин) та гідроксикоричні кислоти (розмаринова, хлорогенова). Сумарний вміст фенольних речовин становить 2,02-2,60 мг/г, флавоноїдів – 1,46-3,17 мг/г. Найбільшу кількість фенольних сполук (2,60 мг/мл) очікувано містив екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином 70 %; найменшу (2,02 мг/мл) – водний екстракт [23, 24]. У результаті експериментальних мікробіологічних випробувань було з'ясовано, що трава лаванди вузьколистої українського походження є перспективним і доступним джерелом потенційних антимікробних активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). Екстракт лаванди, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином 70 %, виявив високий антимікробний та протигрибковий потенціал. За попередніми даними, антимікробна активність корелює із вмістом фенольних речовин. Одержані результати можуть бути корисними для пошуку оригінальних субстанцій для комплексної корекції симптомів неврологічного дефіциту інфекційної етіології. До того ж, результати таких досліджень можуть надати відповідь на питання про фармакологічні маркери лаванди, бо раніше вчені відзначали провідну роль ліналоолу в забезпеченні антимікробної дії [24].

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були експериментальні тест-зразки:

тест-зразок № 1 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водою очищеною;

тест-зразок № 2 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином (40 % етанолом);

тест-зразок № 3 – екстракт трави лаванди вузьколистої, отриманий екстракцією водно-етанольним розчином (70 % етанолом).

Дослідження виконували у Навчально-науковій тренінговій лабораторії медико-біологічних досліджень НФаУ, сертифікованій ДП «Харківстандартметрологія» (посвідчення № 01-0084 від 06.08.2021). З метою відтворення клініки гострого отруєння і для визначення LD_{50} гостру токсичність тест-зразків вивчали на 48-ми статевозрілих білих мишах масою 19-21 г в умовах одноразового внутрішньошлункового введення, відповідно до рекомендацій ДФЦ

МОЗ України [21] та протоколу біоетики № 8 від 15.02.2023 р.

Під час експерименту тварини були у віварії Навчально-наукової тренінгової лабораторії медико-біологічних досліджень НФаУ. Мишей утримували в окремих кімнатах з контрольованими параметрами мікроклімату, у стандартних пластикових клітках по 6 тварин у кожній. Температура повітря становила +20-24 °С, вологість – 45-65 %, світловий режим – 12 годин день/ніч. Провітрювання кімнати та стерилізацію повітря за допомогою кварцової лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води. Для пиття використовували відстояну водопровідну воду з поїлок. Щурів годували гранульованим повнораціонним комбікормом для мишей і щурів ТМ «ГОРА» (ТУ.У.15.7-2123600159-001:2007). Доглядали за тваринами відповідно до стандартних операційних процедур, а також рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [25].

Після акліматизації тривалістю 7 днів та до експериментального нагляду тварин розподілили на групи. До початку експерименту мишам нанесли маркування від 1 до 48. В експериментальні групи відібрали тільки здорових тварин. Тварин, які не відповідали критеріям дослідження, вилучали з відібраних протягом періоду акліматизації. Групи сформували методом рандомізації (випадкового відбору) з використанням маси тіла як головної ознаки (відхилення маси тварин між та всередині груп не перевищувало $\pm 10\%$).

Для проведення експерименту з вивчення гострої токсичності мишей розподілили на 4 групи по 12 тварин (6 самців, 6 самиць) у кожній.

Перед введенням тест-зразків миші голодували протягом 4 годин. Досліджувані тест-зразки вводили у максимальній дозі 4 класу токсичності, що є лімітувальною дозою, здатною викликати токсичну дію: за внутрішньошлункового введення ця доза дорівнює 5000 мг/кг [22].

Тест-зразки у вигляді водного розчину вводили через металевий зонд з розрахунку 0,2 мл/10 г маси тіла мишей внутрішньошлунково [22]. Тваринам групи інтактного контролю вводили воду очищену в еквівалентному розрахунку.

Доступ тварин до води був вільний, до їжі їх допустили лише через 2 години після введення тест-зразків.

За мишами спостерігали протягом 2 тижнів, що цілком дозволяє оцінити токсичну дію досліджуваних екстрактів лаванди на організм експериментальних тварин. Спостерігали за масою (вихідні дані, 3, 7 і 14 доба), за поведінкою тварин після введення тест-зразків (зовнішнім виглядом, диханням, слиновиділенням, сечовипусканням, екскретами, споживанням кормів), за добовим споживанням корму та води (7 та 14 доба). Після закінчення терміну спостереження тварин піддавали евтаназії під легким хлороформним наркозом шляхом шийної дислокації.

Макроскопічне дослідження передбачало: зовнішній огляд тварин, огляд внутрішніх органів грудної (серце, легені, тимус) та черевної порожнини (печінка, селезінка, нирки, наднирники, сім'яники/яєчники) [22].

Після макроскопічного обстеження внутрішніх органів їх зважували (ваги AD300) та розраховували коефіцієнти маси (КМ, %) внутрішніх органів тварин за формулою:

$$KM_{\text{органа}} = \frac{m_{\text{органа}}}{m_{\text{тварини}}} \cdot 100 \%$$

Дизайн дослідження гострої токсичності трьох тест-зразків субстанції лаванди вузьколистий на мишах обох статей наведено в табл. 1.

Для статистичної обробки отриманих даних (маса тіла) використовували середнє арифметичне значення та його стандартну похибку; достовірність розбіжностей між вибірками оцінювали за допомогою ANOVA RM та критерію Данета. Порівнювали з групою інтактного контролю. Показники коефіцієнтів маси внутрішніх органів зображали у вигляді медіани, верхньої та нижньої квартилів. Достовірність розбіжностей між вибірками оцінювали за методом Крускала-Волліса та критерієм Мана-Вітні, порівнюючи з групою негативного контролю [26, 27].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження гострої токсичності сухих екстрактів лаванди за внутрішньошлункового введення наведено в табл. 2-5.

Тварини були під постійним наглядом експериментатора, який щоденно реєстрував їхній загальний стан. Через 20-30 хвилин після введення всіх тест-зразків лаванди в дозі 5000 мг/кг у тварин спостерігали зниження рухової активності. Характер та інтенсивність рухової активності залежали від кожної

Таблиця 1

Дизайн дослідження гострої токсичності тест-зразків

Експериментальні групи	Шлях уведення	Стать тварин	Кількість тварин	Доза, мг/кг	Динаміка маси тіла/ макроскопічні дослідження
Інтактний контроль	Внутрішньошлунковий, одноразово	самці/самиці	6/6	розчинник (вода очищена)	3, 7, 14 доба/14 доба
Тест-зразок № 1			6/6	5 000	
Тест-зразок № 2			6/6	5 000	
Тест-зразок № 3			6/6	5 000	

Таблиця 2

Дослідження летальних ефектів за внутрішньошлункового введення тест-зразків

Експериментальні групи	Доза, мг/кг	Кількість загинув тварин/загальна кількість тварин у групі	
		самці	самиці
Інтактний контроль	розчинник (вода очищена)	0/6	0/6
Тест-зразок № 1	5000	0/6	0/6
Тест-зразок № 2	5000	0/6	0/6
Тест-зразок № 3	5000	0/6	0/6

тварини окремо та статі (самки більш рухливі, ніж самці). Усі ці ознаки зникали через 3-5 годин, надалі стан тварин не відрізнявся від поведінки мишей із групи негативного контролю.

Подальші спостереження за тваринами в ранковій годині протягом 14 діб свідчили про те, що всі тварини були активними, охайними, мали задовільний апетит, адекватно реагували на звукові та світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі, порушення дихання і судоми не спостерігали. Зовнішній огляд засвідчив, що всі дослідні й контрольні миші на 14 день експерименту були нормальної вгодованості. Шерстний покрив охайний, сухий, щільно прилягав до тіла. Регіональні лімфатичні вузли на дотик не збільшені. Слизова оболонка ротової порожнини рожева, гладенька, блискуча. Язик вільно поміщався у ротовій порожнині, без нальоту. Слизова оболонка носу гладенька, блискуча, навколо носа виділень немає. Анальний отвір не забруднений, фекальні маси сформовані. Вагінальний отвір чистий. Обидва яєчка розташовані в мошонці, рухливі. Мошонка рожева, нормального кровонаповнення, розмір її обмежений розміром яєчок.

Загину тварин за весь період спостереження не реєстрували. Результати дослідження летальних ефектів тест-зразків субстанції лаванди наведено в табл. 2.

Відповідно до методичних рекомендацій [22], важливим показником токсичної дії лікарських засобів

є вплив на масу тварин. Результати оцінювання приросту маси тіла тварин наведено в табл. 3.

Спостереження свідчать, що приріст маси тіла мишей у всіх дослідних групах був достатній, не виходив за межі значень групи негативного контролю як у самців, так і у самиць. Отже, введення тест-зразків лаванди в дозі 5000 мг/кг не впливало на приріст маси тіла, що свідчить про відсутність у них токсичних властивостей.

Під час макроскопічного дослідження виявили, що тимус дещо варіював за розміром, був конусоподібної форми з чіткими двома частками, блискучий, м'який на дотик, сіро-рожевого кольору. Легені блідо-рожеві, без спайок між листками плеври, займали всю плевральну порожнину. Серце звичайної конфігурації, нормального розміру, з типовим розташуванням коронарних артерій і вен. Поверхня епікарда без особливостей, міокард на розрізі щільний. Очеревина прозора, гладенька. У порожнині стороннього вмісту не знайдено. Печінка рівномірно червоно-коричнюватого кольору, всі частки вільно розділяються, капсула не напружена, краї часток не закруглені, поверхня органа гладенька, без вузликових утворень. Підшлункова залоза має вигляд слабко розгалуженого пухкого тяжа, паренхіма залози блідо-рожево-жовтуватого кольору, без ознак крововиливів, склерозу й жирових некрозів. Селезінка пружна, повнокровна, червоно-вишневого кольору. Капсула нирок легко знімається, на розрізі органа чітко видно

Таблиця 3

Результати впливу тест-зразків на динаміку маси (г) тіла мишей за внутрішньошлункового введення, $n = 6$, $M \pm m$

Групи тварин	Маса тіла мишей, г			
	вихідна	3 доба	7 доба	14 доба
самці				
Інтактний контроль	27,23 ± 0,65	27,75 ± 0,56	28,70 ± 0,54	29,70 ± 0,61
Тест-зразок № 1	27,07 ± 0,51	27,25 ± 0,54	28,17 ± 0,56	29,50 ± 0,58
Тест-зразок № 2	27,70 ± 0,36	27,87 ± 0,37	28,68 ± 0,50	29,60 ± 0,55
Тест-зразок № 3	27,67 ± 0,43	27,88 ± 0,37	28,45 ± 0,39	29,52 ± 0,35
самиці				
Інтактний контроль	23,47 ± 0,84	23,38 ± 0,79	24,20 ± 0,76	25,42 ± 0,78
Тест-зразок № 1	23,08 ± 1,05	23,12 ± 1,02	24,13 ± 0,95	25,13 ± 0,98
Тест-зразок № 2	23,57 ± 0,92	23,60 ± 0,88	24,47 ± 1,05	25,92 ± 1,17
Тест-зразок № 3	23,80 ± 0,67	23,97 ± 0,74	24,77 ± 0,66	25,90 ± 0,52

Примітка: n – кількість тварин у групі.

Таблиця 4

Вплив тест-зразків на коефіцієнти маси внутрішніх органів мишей, $n = 6$, $\bar{X}(X_{\min} \div X_{\max})$

Внутрішні органи	Групи тварин			
	Інтактний контроль	Тест-зразок № 1	Тест-зразок № 2	Тест-зразок № 3
самці				
Печінка	5,39 (5,08 ÷ 5,71)	5,52 (4,85 ÷ 6,67)	5,15 (4,44 ÷ 5,55)	5,13 (4,70 ÷ 5,52)
Нирки	1,41 (1,17 ÷ 1,82)	1,43 (1,25 ÷ 1,48)	1,37 (1,20 ÷ 1,54)	1,41 (1,15 ÷ 1,59)
Серце	0,51 (0,41 ÷ 0,58)	0,52 (0,46 ÷ 0,58)	0,48 (0,42 ÷ 0,54)	0,50 (0,42 ÷ 0,56)
Легені	0,69 (0,66 ÷ 0,79)	0,73 (0,59 ÷ 0,86)	0,75 (0,59 ÷ 1,02)	0,77 (0,61 ÷ 1,05)
Селезінка	0,66 (0,61 ÷ 0,71)	0,64 (0,57 ÷ 0,75)	0,70 (0,58 ÷ 0,75)	0,67 (0,59 ÷ 0,74)
Тимус	0,222 (0,170 ÷ 0,272)	0,205 (0,175 ÷ 0,255)	0,219 (0,180 ÷ 0,248)	0,219 (0,135 ÷ 0,256)
Сім'яники	0,60 (0,55 ÷ 0,63)	0,62 (0,56 ÷ 0,68)	0,63 (0,58 ÷ 0,67)	0,62 (0,43 ÷ 0,69)
самці				
Печінка	5,11 (4,17 ÷ 5,65)	5,21 (4,58 ÷ 5,89)	5,05 (4,44 ÷ 5,73)	5,16 (4,67 ÷ 5,73)
Нирки	1,07 (0,91 ÷ 1,26)	1,06 (0,97 ÷ 1,29)	1,00 (0,84 ÷ 1,34)	1,04 (0,93 ÷ 1,11)
Серце	0,46 (0,38 ÷ 0,69)	0,46 (0,42 ÷ 0,54)	0,48 (0,38 ÷ 0,66)	0,46 (0,42 ÷ 0,49)
Легені	0,90 (0,61 ÷ 1,06)	0,92 (0,78 ÷ 1,02)	0,89 (0,66 ÷ 1,16)	0,94 (0,80 ÷ 1,17)
Селезінка	0,70 (0,60 ÷ 0,85)	0,69 (0,57 ÷ 0,83)	0,69 (0,57 ÷ 0,78)	0,71 (0,58 ÷ 0,81)
Тимус	0,230 (0,185 ÷ 0,291)	0,233 (0,190 ÷ 0,317)	0,231 (0,200 ÷ 0,266)	0,232 (0,181 ÷ 0,293)

Примітка: n – кількість тварин у групі.

щільні, зі збереженням малюнка шару. Наднирники зовні не змінені. Слизова оболонка залозистого відділу шлунка має характерний рельєф смужок, без геморагій, набряку, ерозивних ушкоджень. Слизова оболонка різних відділів кишечника звичайна за кольором, вміст відповідає відділам. Яєчка, придатки яєчок, передміхурова залоза та сім'яні пухирці, яєчники, матка без патології.

Розрахунок та подальший аналіз показників коефіцієнтів маси внутрішніх органів тварин підтвердив, що внутрішньошлункове одноразове введення тест-зразків сухих екстрактів лаванди не призвело до їх зміни проти показників тварин групи негативного контролю як у самців, так і у самок. Показники були в межах фізіологічної норми, що свідчить про відсутність негативного впливу на загальнотрофічні процеси тварин (табл. 4).

Отже, на підставі отриманих даних можемо висувати, що одноразове внутрішньошлункове введення водного та двох екстрактів трави лаванди вузько-листої, отриманих екстракцією водно-етанольними розчинами (40 та 70 % етанолом) у дозі 5000 мг/кг не призводить до будь-яких помітних змін фізіологічного стану тварин, маси тіла та відносної маси внутрішніх органів, що дозволяє віднести досліджувані тест-зразки до V класу практично не токсичних речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) (табл. 5).

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників, які засвідчують, що LD_{50} препаратів з лаванди перебувають у межах 2000-5000 мг/кг,

Таблиця 5

Середньолетальні дози тест-зразків за внутрішньошлункового введення

Дослідна група	LD_{50} , мг/кг
Тест-зразок № 1	V клас (практично не токсичних речовин), > 5000 мг/кг
Тест-зразок № 2	
Тест-зразок № 3	

тобто належать до V класу токсичності (2000 мг/кг < LD_{50} < 5000 мг/кг). Так, Mekonnen A. та ін. продемонстрували, що значення LD_{50} екстракту, який вони досліджували, є за межами 2000 мг/кг [28]. У дослідженнях, проведених da Silva зі співавт. [29], значення LD_{50} становило 3,55 г/кг. Корейські вчені також з'ясували, що LD_{50} ефірної олії лаванди становить більше 2000 мг/кг [30].

Висновки та перспективи подальших досліджень. Результати проведеного дослідження демонструють, що одноразове внутрішньошлункове введення тест-зразків лаванди в дозі 5000 мг/кг не призводить до патологічних змін фізіологічного стану тварин, що дозволяє віднести досліджувані екстракти до V класу практично не токсичних речовин ($LD_{50} > 5000$ мг/кг). Надалі доцільно вивчити місцевоподразнювальну дію та гостру токсичність за багаторазового введення, що дозволить визначити потенційний вплив досліджуваних екстрактів на морфологічні та фізіологічні зміни в органах тварин після повторних уведень.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Кременчук Р. І. Фітономія та сучасний стан таксономії лаванди (*Lavandula L.*) Сучасний стан та гармонізація назв культурних рослин у системі UPOV : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 13 жовт. 2017 р. / Інститут експертизи сортів рослин. Вінниця : Нілан-ЛТД, 2017. С. 26-27.
- Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on Acute Inflammatory Response / Cardia et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018. Vol. 2018, № 10. DOI: 10.1155/2018/1413940.1413940/.

3. Effect of drying on the composition of essential oil from *lavandula angustifolia* / K. Smigielski et al. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2011. Vol. 14, № 5. P. 532-542. DOI: 10.1080/0972060X.2011.10643970
4. Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granaries* / G. S. Germinara et al. *Bulletin of Insectology*. 2017. Vol. 70, № 1. P. 129-138.
5. de Rapper S., Kamatou G., Viljoen A., van Vuuren S. The *In Vitro* Antimicrobial Activity of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Other Aroma-Therapeutic Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013. Vol. 2013. P. 10. DOI: 10.1155/2013/852049.852049.
6. Wolfe N., Herzberg J. Can aromatherapy oils promote sleep in severely demented patients? *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 1996. Vol. 11, № 10. P. 926-927. DOI: 10.1155/2017/1902807.
7. Lis-Balchin M., Hart S. Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller) *Phytotherapy Research*. 1999. Vol. 13, № 6. P. 540-542. DOI: 10.1002/(sici)1099-1573(199909)13:6<540:aid-ptr523>3.0.co;2-i.
8. Diuretic activity of the infusion of flowers from *Lavandula officinalis* / M. Elhajili et al. *Reproduction Nutrition Development*. 2001. Vol. 41, № 5. P. 393-399. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12014366/> (Date of access: 02.10.2024).
9. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial / S. Akhondzadeh et al. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2003. Vol. 27, № 1. P. 123-127. DOI: 10.1016/s0278-5846(02)00342-1.
10. A potential role of *Lavandula angustifolia* in the management of diabetic dyslipidemia / A. Issa et al. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. Vol. 5, № 6. P. 3876-3882.
11. Cardioprotective effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rat / M. Ziaee et al. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 14, № 1. P. 279-289. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4277641/> (Date of access: 02.10.2024).
12. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil / G. L. da Silva et al. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2015. Vol. 87, № 2. P. 1397-1408. DOI: 10.1590/0001-3765201520150056.
13. Mori H.-M., Kawanami H., Kawahata H., Aoki M. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2016. Vol. 16. P. 144. DOI: 10.1186/s12906-016-1128-7.
14. Khosravi R., Sendi J. J. Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae) *Journal of King Saud University – Science*. 2013. Vol. 25, № 4. P. 349-355. DOI: 10.1016/j.jksus.2013.01.002.
15. Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil / H. Niksic et al. *Journal of Health Sciences*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 35-43. DOI: 10.17532/jhsci.2017.412.
16. Cavanagh H. M. A., Wilkinson J. M. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*. 2002. Vol. 16, № 4. P. 301-308. DOI: 10.1002/ptr.1103.
17. Prusinowska R., Śmigielski K. B. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. *Herba Polonica*. 2014. Vol. 60, № 2. P. 56-66. DOI: 10.2478/hepo-2014-0010.
18. Integrating Zebrafish Model to Screen Active Ingredients and Network Pharmacology Methods to Explore the Mechanism of *Lavandula angustifolia* Therapy for Alzheimer's Disease / M. Li et al. *ChemistrySelect*. 2022. Vol. 7, e202201364. DOI: 10.1002/slct.202201364.
19. Mir A. H., Sexena M., Malla M. Y. An acute oral toxicity study of methanolic extract from *Tridax procumbens* Sprague Dawley's Rats as per OECD guidelines 423. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2013. Vol. 3, № 1. P. 16-20.
20. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика : Настанова. СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Київ : МОЗ України, 2009. 27 с.
21. Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів, Порядку визначення установ, які проводять доклінічне вивчення лікарських засобів : Наказ МОЗ України № 944 від 14.12.2009р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0972-01#Text> (дата звернення: 02.10.2024).
22. Коваленко В. М., Стефанов О. В., Максимов О. В., Трахтенберг І. М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. С. 74-79.
23. *Lavandula angustifolia* Herb from Ukraine: Comparative Chemical Profile and in vitro Antioxidant Activity / O. Mykhailenko et al. *Chem. Biodiversity*. 2024. Vol. 21, № 9. P. e202400640. DOI: 10.1002/cbdv.202400640.
24. *Lavandula angustifolia* Mill. of Ukrainian origin: a comparative study of the chemical composition and antimicrobial potential of herb extracts / O. Bogatyrova et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. № 5(51). P. 4-14. DOI: 10.15587/2519-4852.2024.313236.
25. Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдинова Г. А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ : Авіцена, 2002. 156 с.
26. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development / F. Wu et al. *Frontiers in Chemistry*. 2020. Vol. 8. P. 726. DOI: 10.3389/fchem.2020.00726.
27. Lee S. W. Methods for testing statistical differences between groups in medical research: statistical standard and guideline of Life Cycle Committee. *Life Cycle*. 2022. Vol. 2. P. e1. DOI: 10.54724/lc.2022.e1.
28. Evaluation of Skin Irritation and Acute and Subacute Oral Toxicity of *Lavandula angustifolia* Essential Oils in Rabbit and Mice / A. Mekonnen et al. *Journal of Toxicology*. 2019. Vol. 2019. P. 5979546. DOI: 10.1155/2019/5979546.
29. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil / G. L. da Silva et al. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2015. Vol. 87, № 2. P. 1397-1408. DOI: 10.1590/0001-3765201520150056.
30. Evaluation of Acute Toxicity of Plant Extracts, Lavender, Lemon Eucalyptus and Cassia Essential Oil / Mi-Hye Jeong et al. *The Korean Journal of Pesticide Science*. 2010. Vol. 14, № 4. URL: https://www.researchgate.net/publication/264075896_Evaluation_of_Acute_Toxicity_of_Plant_Extracts_Lavender_Lemon_Eucalyptus_and_Cassia_Essential_Oil (Date of access: 02.10.2024).

REFERENCES

- Kremenichuk R. I. (2017). Fitonomiia ta suchasnyi stan taksonomii lavandy (Lavandula L.) Suchasnyi stan ta harmonizatsiia nazv kulturnykh roslyn u systemi UPOV: materialy Mizhnar. nauk.-prakt. konf. (13 zhovt. 2017 r.) (s.26-27.). Vinnytsia.
- Cardia G. F. E., Silva-Filho S. E., Silva E. L., Uchida, N. S., Cavalcante, H. A. O., Cassarotti L. L. et al. (2018). Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia* Essential Oil on Acute Inflammatory Response. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 10. doi:10.1155/2018/1413940.1413940.
- Smigielski K., Prusinowska R., Raj A., Sikora M., Wolińska K., Gruska R. (2011). Effect of drying on the composition of essential oil from *lavandula angustifolia*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(5), 532-542. doi: 10.1080/0972060X.2011.10643970.
- Germinara, G. S., Di Stefano M. G., De Acutis L., Pati, S., Delfine, S., Cristofaro, A. De, Rotundo, G. et al. (2017). Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bulletin of Insectology*, 70(1), 129-138.
- de Rapper, S., Kamatou, G., Viljoen, A., van Vuuren, S. (2013). The *In Vitro* Antimicrobial Activity of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Other Aroma-Therapeutic Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 10. doi: 10.1155/2013/852049.852049.
- Wolfe, N., Herzberg, J. (1996). Can aromatherapy oils promote sleep in severely demented patients? *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 11(10), 926-927. doi: 10.1155/2017/1902807.
- Lis-Balchin, M., Hart, S. (1999). Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller) *Phytotherapy Research*, 13(6), 540-542. doi: 10.1002/(sici)1099-1573(199909)13:6<540:aid-ptr523>3.0.co;2-i.
- Elhajili, M., Baddouri, K., Elkabbaj, S., Meiouat, F., Settaf, A. (2001). Diuretic activity of the infusion of flowers from *Lavandula officinalis*. *Reproduction Nutrition Development*, 41(5), 393-399. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12014366>.
- Akhondzadeh S., Kashani L., Fotouhi A., Jarvandi, S., Mobaseri, M., Moin, M. et al. (2003). Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27(1), 123-127. doi: 10.1016/s0278-5846(02)00342-1.
- Issa A., Mohammad M., Hudaib M., Tawaha, K. A., Talal A. R., Oran, S., Bustanji, Y. et al. (2011). A potential role of *Lavandula angustifolia* in the management of diabetic dyslipidemia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(6), 3876-3882.
- Ziaee M., Khorrami A., Ebrahimi M., Nourafcan, H., Amiraslazadeh, M., Rameshrad, M. et al. (2015). Cardioprotective effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(1), 279-289. Available at: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4277641/>.
- da Silva, G. L., Luft, C., Lunardelli, A., Amaral, R. H., da Silva Melo, D. A., Donadio, M. V. F. et al. (2015). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 1397-1408. doi: 10.1590/0001-3765201520150056.
- Mori, H.-M., Kawanami, H., Kawahata, H., Aoki, M. (2016). Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 144. doi: 10.1186/s12906-016-1128-7.
- Khosravi, R., Sendi, J. J. (2013). Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of King Saud University – Science*, 25(4), 349-355. doi: 10.1016/j.jksus.2013.01.002.
- Niksic, H., Kovac-Besovic, E., Omeragic, E., Muratovic, S., Kusturica, J., Duric, K. (2017). Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil. *Journal of Health Sciences*, 7(1), 35-43. doi: 10.17532/jhsci.2017.412.
- Cavanagh, H. M. A., Wilkinson, J. M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301-308. doi: 10.1002/ptr.1103.
- Prusinowska, R., Smigielski, K. B. (2014). Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. *Herba Polonica*, 60(2), 56-66. doi: 10.2478/hepo-2014-0010.
- Li, M., Cao, X., Yan, H., Wang, M., Tashibolati, A., Maiwulanjiang, M. (2022). Integrating Zebrafish Model to Screen Active Ingredients and Network Pharmacology Methods to Explore the Mechanism of *Lavandula angustifolia* Therapy for Alzheimer's Disease. *Chemistry Select*, 7, e202201364. <https://doi.org/10.1002/slct.202201364>.
- Mir, A., Sexena, M., Malla, M. (2013). An acute oral toxicity study of methanolic extract from *Tridax procumbens* in Sprague Dawley's Rats as per OECD guidelines 423. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(1), 6-20.
- MOZ Ukrainy. (2009). Nastanova. ST-N MOZU 42-6.0:2008. Likarski zasoby. Nalezhna laboratorna praktyka.
- Nakaz MOZ Ukrainy (2009). Nakaz vid 14.12.2009r № 944 Pro zatverdzhennia Poriadku provedennia doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv, Poriadku vyznachennia ustanov, yaki provodiad doklinichne vyvchennia likarskykh zasobiv.
- Kovalenko, V. M., Stefanov, O. V., Maksymov, O. V., Trakhtenberh, I. M. (2001). Eksperymentalne vyvchennia toksychnoi dii potent-siinykh likarskykh zasobiv. Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv. Kyiv: Avitsena.
- Mykhailenko, O., Hurina, V., Ivanauskas, L., Marksa, M., Skybitska, M., Kovalenko, O. et al. (2024). *Lavandula angustifolia* Herb from Ukraine: Comparative Chemical Profile and in vitro Antioxidant Activity. *Chem. Biodiversity*, 21(9), e202400640. doi: 10.1002/cbdv.202400640.
- Bogatyrova, O., Hurina, V., Naboka, O., Filimonova, N., Dzhoraieva, S., Mykhailenko, O. et al. (2024). *Lavandula angustifolia* Mill. of Ukrainian origin: a comparative study of the chemical composition and antimicrobial potential of herb extracts. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 5(51), 4-14. doi: 10.15587/2519-4852.2024.313236.
- Kozhem'iakin, Yu. M., Khromov, O. S., Filonenko, M. A., Saifetdynova, H. A. (2002). *Naukovo-praktychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy*. Kyiv: Avitsena.
- Wu, F., Zhou, Y., Li, L., Shen, X., Chen, G., Wang, X. et al. (2020). Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Frontiers in Chemistry*, 8, 726. doi: 10.3389/fchem.2020.00726.
- Lee, S. W. (2022). Methods for testing statistical differences between groups in medical research: statistical standard and guideline of Life Cycle Committee. *Life Cycle*, 2. doi: 10.54724/lc.2022.e1.

28. Mekonnen, A., Tesfaye, S., Christos, S. G., Dires, K., Zenebe, T., Zegeye, N. et al. (2019). Evaluation of Skin Irritation and Acute and Subacute Oral Toxicity of *Lavandula angustifolia* Essential Oils in Rabbit and Mice. *Journal of Toxicology*, 2019, 5979546. doi: 10.1155/2019/5979546.
29. da Silva, G. L., Luft, C., Lunardelli, A., Amaral, R. H., da Silva D. A. Melo, Donadio M. V. F. et al. (2015). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects of lavender essential oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 1397-1408. doi: 10.1590/0001-3765201520150056.
30. Mi-Hye Jeong, Mi-Jeong Kwon, Soo-Jin Park, Sung-Hum Yeon, Kyung-Hun Park, Jae-Eup Park et al. (2010). Evaluation of Acute Toxicity of Plant Extracts, Lavender, Lemon Eucalyptus and Cassia Essential Oil. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 14(4). Available at: https://www.researchgate.net/publication/264075896_Evaluation_of_Acute_Toxicity_of_Plant_Extracts_Lavender_Lemon_Eucalyptus_and_Cassia_Essential_Oil.

Відомості про авторів:

Богатирьова О. О., аспірантка кафедри клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: elena.bogatyrova@live.com.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7994-1245>

Набока О. І., доктор біологічних наук, професор кафедри клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: olganaboka2012@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2671-6923>

Information about authors:

Bogatyrova O. O., PhD student of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Microbiology, and Biological Chemistry, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: elena.bogatyrova@live.com.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7994-1245>

Naboka O. I., Doctor of Biology (Dr. habil.), professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Microbiology, and Biological Chemistry, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: olganaboka2012@gmail.com.

<https://orcid.org/0000-0003-2671-6923>

Надійшла до редакції 24.09.2024 р.

Н. М. Кононенко, М. С. Анісімова

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Вплив нової фітокомпозиції на основі екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот на стан підшлункової залози й печінки щурів на моделі цукрового діабету 2 типу

У фармакотерапії цукрового діабету 2 типу (ЦД2) та метаболічного синдрому для корекції порушень, які розвиваються на тлі інсулінорезистентності, як важливе профілактичне і лікувальне доповнення застосовують лікарські рослини й амінокислоти, що зумовлює актуальність розробки нових вітчизняних комбінованих антидіабетичних фітопрепаратів.

Мета дослідження – вивчити вплив фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот (L-аргінін, таурин, гліцин) на стан печінки й підшлункової залози щурів в умовах експериментальної моделі ЦД2.

Матеріали та методи. Цукровий діабет 2 типу відтворювали шляхом введення щурам розчину стрептозотоцину 65 мг/кг внутрішньочеревно, одноразово, з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамід у інтраперитоніально 230 мг/кг на тлі ожиріння (утримували щурів на висококалорійній дієті впродовж 12-ти тижнів). Пankреато- та гепатопротекторну властивості досліджуваної фітокомпозиції вивчали за морфофункціональним станом β -клітин підшлункової залози, вмістом глікогену й нейтральних жирів у печінці та морфометричними показниками в підшлунковій залозі.

Результати та їх обговорення. Досліджувана фітокомпозиція виявила стимулювальний вплив на регенераційні процеси в інсулінпродукувальному апараті підшлункової залози щурів: виразність проліферації малих β -клітин у панкреатичних острівцях значно зростала, якщо порівнювати з контрольною патологією.

На морфологічному рівні фітокомпозиція виявила гепатопротекторні властивості, значно зменшуючи прояви токсико-дистрофічної дії діабетогенів та відновлюючи жировий і вуглеводний обмін у гепатоцитах.

Висновки. Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення фітокомпозиції як перспективного протидіабетичного засобу.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу; стрептозотоксин; нікотинамід; підшлункова залоза; печінка; журавлина великоплідна; амінокислоти

N. M. Kononenko, M. S. Anisimova

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The effect of a new phytocomposition based on the cranberry leaf extract and amino acids on the pancreas and liver of rats in the model of diabetes mellitus type 2

In pharmacotherapy of diabetes mellitus type 2 and metabolic syndrome, medicinal plants and amino acids are used as an important preventive and therapeutic supplement to correct disorders that develop against the background of insulin resistance, which determines the relevance of developing new domestic combined antidiabetic herbal medicines.

Aim. To study the effect of a phytocomposition based on the polyphenol extract from large-fruited cranberry leaves and amino acids (L-arginine, taurine, glycine) on the state of the liver and pancreas of rats in an experimental model of diabetes mellitus type 2.

Materials and methods. Diabetes mellitus type 2 was reproduced by a single injection of rats with a streptozotocin solution in the dose of 65 mg/kg, intraperitoneally with the previous (15 min) intraperitoneal administration of nicotinamide in the dose of 230 mg/kg against the background of obesity (keeping rats on a high-calorie diet for 12 weeks). The pancreatic and hepatoprotective effect of the phytocomposition was studied according to the morphofunctional state of pancreatic β -cells, the content of glycogen and neutral fats in the liver and morphometric indices in the pancreas.

Results. The phytocomposition studied had a stimulating effect on regenerative processes in the insulin-producing apparatus of the rat pancreas – the severity of proliferation of small β -cells in pancreatic islets significantly increased compared to the control pathology. The phytocomposition at the morphological level showed hepatoprotective properties considerably reducing the manifestations of the toxic-dystrophic action of diabetogens, significantly restoring fat and carbohydrate metabolism in hepatocytes.

Conclusions. The results obtained substantiate the feasibility of further study of the phytocomposition as a promising antidiabetic agent.

Key words: diabetes mellitus type 2; streptozotocin; nicotinamide; pancreas; liver; large-fruited cranberry; amino acids

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) у всіх його формах – це проблема глобального рівня, яка є людським і соціально-економічним тягарем для будь-якої країни світу незалежно від рівня її економічного розвитку та доходів населення. Прогнозують, що до 2030 р. кількість хворих на діабет збільшиться до 552 млн (9,9 % або один хворий на ЦД на 10 здорових дорослих), а до 2035 р. – до 592 млн (10,1 %) [1]. За даними Міжнародної діабетичної федерації, є ще додатково 50 % від загальної кількості випадків ЦД – до 183 млн осіб, які вже хворі, проте ще не діагностовані [2].

Цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) – це порушення вуглеводного обміну, спричинене переважною інсулінорезистентністю та відносною інсуліновою недостатністю або з переважним дефектом секреції інсуліну з інсулінорезистентністю. Зростання захворюваності дозволяє говорити про епідемію ЦД [3].

За даними сайту «Атлас : Діабет в Україні» [4], поширеність ЦД серед населення нашої країни 2017 року складала 3,0 % (42584542 – кількість населення України, хворих на ЦД – 1270929 осіб). Дані наведено без урахування хворих на ЦД на окупованих територіях Донецької, Луганської областей та АР Крим.

Для України нині додався ще один фактор ризику ЦД – війна і постійний стан стресу, який вона викликала.

Зазначене доводить наявність сталої тенденції до зростання захворюваності на ЦД2 серед населення України вже зараз і найближчим часом. Це дозволяє констатувати, що питання лікування ЦД стає важливим чинником впливу як на стан здоров'я населення, так і на діяльність національної системи охорони здоров'я і сфери охорони здоров'я загалом.

Варто зауважити, що сучасні пероральні гіпоглікемічні засоби викликають побічні реакції [5], а їх застосування не завжди дозволяє досягти цільових показників глікемії, що свідчить про актуальність пошуку й дослідження нових перспективних антидіабетичних препаратів [6].

У цьому аспекті у фармакотерапії ЦД2 як важливе профілактичне та лікувальне доповнення застосовують лікарські рослини, що мають широкий спектр фармакологічної дії.

Перспективною рослинною сировиною, яку можна використати для розробки антидіабетичних засобів, є *Vaccinium mastocarpum* (журавлина великоплідна) – рослина родини Вересових (Ericaceae). Вибір листя журавлини великоплідної як сировини для одержання поліфенольного екстракту обґрунтовано значним вмістом у ньому фенольних сполук, що відповідають за гіпоглікемічну активність, зумовлену наявністю простих фенолів (арбутин); флавоноїдів, які покращують мікроциркуляцію тканин за рахунок мембраностабілізуючої та антиоксидантної дії; аскорбінової кислоти; гідроксикоричних кислот, зокрема галої та хлорогенової кислоти, що здатна інгібувати глюкозо-6-фосфатазу. Цей фермент каталізує кінцевий етап глікогенолізу та глюконеогенезу. Актуальним також є можливе посилення гіпоглікемічної

активності в разі модифікації екстракту журавлини великоплідної листя амінокислотами, вплив яких на метаболічні процеси на тлі інсулінорезистентності обґрунтовано даними літератури [7, 8].

У Національному фармацевтичному університеті розроблено поліфенольний екстракт із листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот.

Метою роботи було вивчити вплив фітокомпозиції на основі поліфенольного екстракту з листя журавлини великоплідної та амінокислот (L-аргінін, таурин, гліцин) на стан печінки й підшлункової залози щурів в умовах експериментальної моделі ЦД2.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 30 статевозрілих інбредних щурах-самцях масою 180 ± 20 г, що їх утримували в стандартних умовах віварію Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ. Усі маніпуляції здійснювали з дотриманням принципів біоетики відповідно до положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для дослідних та інших наукових цілей (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 15.12.2009 р. № 1759-VI) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах [9-11].

Сухий спиртовий екстракт з листя журавлини великоплідної з додаванням амінокислот отримано на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора О. М. Кошового. Екстрагент для одержання екстракту вибирали експериментальним шляхом. З'ясували, що використання 50 % спирту у співвідношенні 1:10 (з урахуванням коефіцієнта поглинання екстрагента) забезпечує найбільший вихід сухого екстракту з листя журавлини великоплідної, кількісний вміст гідроксикоричних кислот (12,23 %) та флавоноїдів (4,01 %), які і відповідають за гіпоглікемічну дію. Зазначене співвідношення є достатнім для одержання засобу для корекції інсулінорезистентних станів та оптимальним у технологічному плані для одержання заявленого засобу в промислових умовах і раціонального використання спирту. Листя журавлини великоплідної подрібнювали до розміру частинок 1-3 мм та тричі екстрагували 50 % розчином спирту етилового в загальному співвідношенні 1:10 за кімнатної температури протягом доби. Витяжки об'єднували, відстоювали протягом доби за кімнатної температури, відокремлювали надосадову рідину фільтруванням, після чого додавали аргінін, таурин і гліцин у триразовій еквімолярній кількості щодо загальної суми фенольних сполук в екстракті, настоювали добу й упарювали до сухого екстракту.

В одержаному сухому екстракті з листя журавлини великоплідної міститься не менше 10 % фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, не менше 5 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та не менше 2 % флавоноїдів у перерахунку на рутин.

Як референтні препарати обрали збір «Арфазетин» (ЗАТ «Ліктрави», Україна) та таблетки «Метформін» (KRKA, Slovenia; Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Poland). Збір «Арфазетин» обрали тому, що це єдиний препарат рослинного походження з протидіабетичною активністю, присутній наразі на фармацевтичному ринку України. До складу збору входять пагінці чорниці (20 %), лушпинки плодів квасолі звичайної (20 %), кореневище з корінням ехінопанаксу високого (заманихи) (15 %), плоди шипшини (15 %), трава хвощу польового (10 %), трава звіробою (10 %), квітки ромашки (10 %). Таблетки «Метформін» застосовували внутрішньошлунково в дозі 60 мг/кг маси щурів, що її обчислили з середньої добової дози для людини (2000 мг/день) за допомогою коефіцієнтів перерахунку, беручи до уваги площу тіла тварини.

Фітозбір «Арфазетин» застосовували у вигляді настою, який готували за інструкцією: 5 г збору заливали 200 мл гарячою кип'яченою водою і настоювали на киплячій водяній бані 15 хв із закритою кришкою. Далі охолоджували за кімнатної температури протягом 45 хв, проціджували й доводили до первинного об'єму 200 мл кип'яченою водою. Дозу фітопрепарату добирали, спираючись на рекомендації з дозування настоек та інструкцію до медичного застосування препарату (середня терапевтична доза для людини масою тіла 70 кг складає 300 мл настою на добу: $300 \text{ мл} / 70 \text{ кг} = 4,3 \text{ мл/кг}$, отже, з огляду на коефіцієнт видової чутливості доза для тварин складає: $4,3 \text{ мл/кг} - 0,45$; $X \text{ мл/кг} - 1,89$; $X = 18 \text{ мл/кг}$ настою на добу).

ЦД2 моделювали за методикою Islam S., Choi H. [12] шляхом введення щурам розчину стрептозоточину (STZ, «Sigma», США) 65 мг/кг, внутрішньочеревно, одноразово, з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамиду (N, «Sigma – Aldrich», США) інтраперитоніально 230 мг/кг на тлі ожиріння. До цього щури протягом 12-ти тижнів перебували на висококалорійній дієті (ВКД) (дієта з надмірним вмістом насичених жирів: білки – 20,0 %, жири – 60,0 %, вуглеводи – 20,0 % від загального калоражу). Стрептозоточин розчиняли *ex tempore* і вводили на цитратному буфері (pH 4,5), зважаючи на той факт, що в лужному та нейтральному середовищі він швидко деградує до неактивних метаболітів і втрачає свою діабетогенну активність.

Тварин шляхом сліпої вибірки було рандомізовано в такі групи (n = 6): 1 – інтактний контроль (ІК), тварини отримували відповідну кількість цитратного буфера (pH 4,5) внутрішньошлунково через зонд; 2 – щури з контрольною патологією (КП); 3 – щури, які на тлі стрептозоточину з попереднім введенням нікотинамиду одержували фітокомпозицію в дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково (ФК); 4 та 5 групи – тварини, яким на тлі діабету вводили препарати порівняння.

Досліджувану фітокомпозицію і референс-препарати вводили один раз на день протягом 28-ми діб.

Перше введення засобів починали через 24 години після індукції діабету.

Виводили всіх тварин з експерименту на 30-й день після індукції діабету шляхом передозування ефірного наркозу. Комісія з питань біоетики НФаУ не виявила порушень морально-етичних норм під час планування та проведення досліджень (№ 7 від 20.10.2022 р.). Зразки печінки й підшлункової залози (тіло та хвостову частину) вилучали з товщі шлунково-селезінкової зв'язки, фіксували в 10 % розчині формаліну, заливали парафіном. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Ідентифікували β -клітини острівцевого апарату підшлункової залози після фарбування зрізів альдегід-фуксином за Гоморі, що забарвлює базофільні гранули інсуліну в цитоплазмі клітин у синьо-фіолетовий колір. Застосування цього методу дозволяє визначати наявність клітин в острівцях Лангерганса, де відбувається синтез інсуліну, а також оцінити функціональний стан β -клітин.

На зрізах печінки проводили також ШИК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікогену (контроль з амілазою слини). Для верифікації нейтральних жирів окремі зразки печінки після фіксації у формаліні різали на мікротомі, що заморожує, зрізи фарбували суданом IV [13].

Виконували морфометричні виміри: на зрізах підшлункової залози (фарбування гематоксиліном і еозином) визначали оптичну щільність панкреатичних острівців (ПО) (загальну кількість їх у мікропрепараті) та острівцевий профіль (кількість β -клітин у острівці). За показником острівцевого профілю розподіляли острівці на дрібні (до 20 β -клітин), середні (21-60 β -клітин) та великі (> 61 β -клітини), визначали частку кожної категорії ПО [14]. За виразністю фарбування альдегід-фуксином і характером розподілу базофільних гранул інсуліну в цитоплазмі інсуліноцитів оцінювали морфофункціональний стан β -клітин у ПО за 4-х бальною системою [15]: 4 бали – майже всі β -клітини рівномірно заповнені виразно пофарбованими альдегід-фуксином гранулами; 3 бали – значна кількість β -клітин містить помірно пофарбовані альдегід-фуксином гранули; 2 бали – одні β -клітини заповнені помірно пофарбованими альдегід-фуксином гранулами, інші – повністю їх позбавлені; 1 бал – клітини з мінімальною кількістю помірно чи слабо пофарбованими альдегід-фуксином гранулами. Всі отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики.

Мікропрепарати переглядали під світловим мікроскопом Granum, мікроскопічні зображення фотографували цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

Результати та їх обговорення. У щурів з групи ІК залозиста тканина підшлункової залози складалася з помірних за розміром часточок, у яких містилися кінцеві відділи альвеолярної залози – ацинуси (екзокринна частина) та панкреатичні острівці (ендокринна частина). ПО округло-овальної форми,

чітко відокремлені від навколишньої ацинарної паренхіми. Центральна частина острівців доволі щільно й рівномірно заповнена β -клітинами, розташованими тяжами, які розподілялися синусоїдальними капілярами. По периферії острівців ланцюжком одна до одної розміщені α -клітини. Такий зональний розподіл розташування α - і β -клітин в острівці є типовим для досліджуваного виду тварин. Після фарбування альдегід-фуксином цитоплазма β -клітин рівномірно забарвлена в синьо-фіолетовий колір, що свідчить про нормальний рівень їхньої функціональної активності.

У результаті морфометричних досліджень з'ясували, що оптична щільність ПО дорівнювала 22 одиницям. За острівцевим профілем розподілили їх так:

дрібні – 28,2 %, середні – 60 %, великі – 11,8 %. Інтенсивність фарбування альдегід-фуксином інсуліноцитів у острівцях була на рівні 3,3 бала (табл.).

Ацинуси щільно розташовані, чітко відокремлені один від одного, складалися з одного шару залозистих клітин. Цитоплазма екзокринних панкреатитів мала базofilьну периферичну зону, що містила ядро, та оксифільну центральну зону, що містила зерна зимогену. Співвідношення цих зон коливалося в межах 1:1,5 – 1:2, що відображає нормальний асинхронний характер функціональної активності клітин. Міжчасточкові сполучнотканинні прошарки вузькі. Внутрішньочасточкові та міжчасточкові вивідні протоки, артерії та вени різних калібрів зовні не змінені (рис. 1).

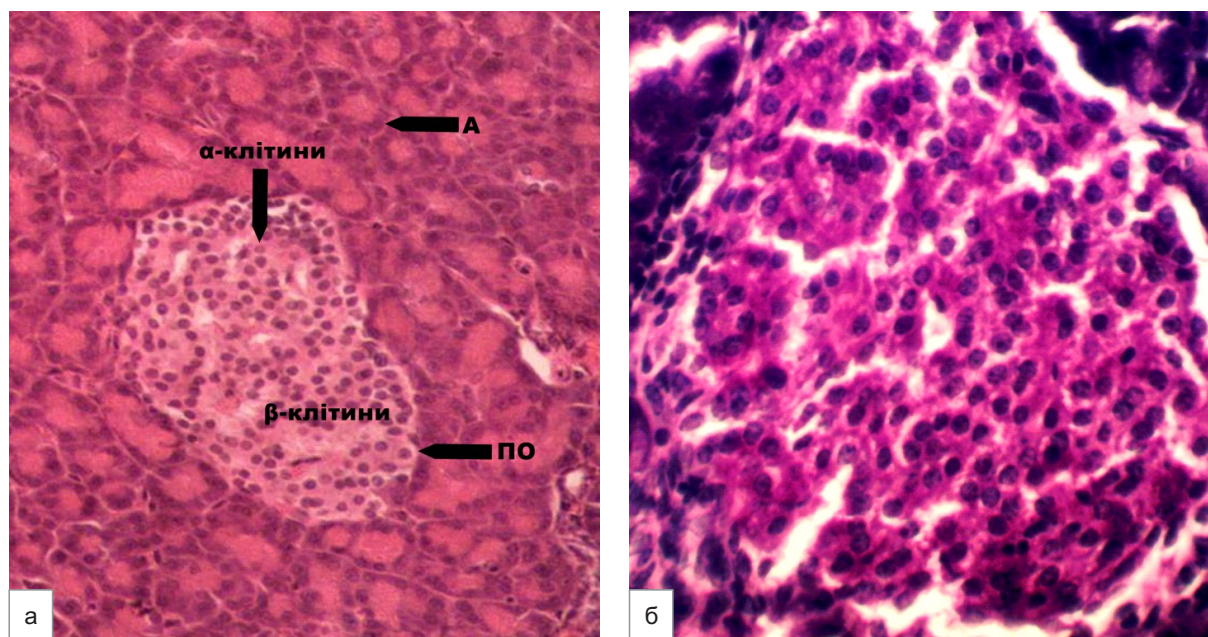


Рис. 1. Підшлункова залоза інтактного щура: а) – нормальний стан ацинусів (А) та клітин ПО (гематоксилін-еозин, х250); б) – інтенсивне рівномірне забарвлення цитоплазми β -клітин (альдегід-фуксин за Гоморі-гематоксилін, х400)

Таблиця

Вплив ФК та препаратів порівняння на морфометричні показники підшлункової залози щурів в умовах ЦД2, (n 0 = 6)

Група	Оптична щільність ПО (кількість у мікропрепараті)	Розмір ПО (за кількістю β -клітин)			Виразність альдегід-фуксинофільної забарвленості β -клітин ПО (бали)
		Дрібні (до 20), %	Середні (21-60), %	Великі (> 60), %	
ІК	22,0 $\pm$ 0,37 [21; 23] 100 %	6,17 $\pm$ 0,48 [4; 7] 28,2 %	13,2 $\pm$ 0,31 [12; 14] 60 %	2,67 $\pm$ 0,21 [2; 3] 11,8 %	3,33 $\pm$ 0,21 [3; 4]
КП	10,3 $\pm$ 0,49* [9; 12] 100 %	12,5 $\pm$ 0,43* [11; 14] 56,6 %	3,33 $\pm$ 0,21* [3; 4] 32,08 %	1,0 $\pm$ 0,37 [0; 2] 11,32 %	1,5 $\pm$ 0,22* [1; 2]
ФК	17,5 $\pm$ 0,43*/* [16; 19] 100 %	6,67 $\pm$ 0,21*/*/mm [6; 7] 38 %	9,67 $\pm$ 0,21*/*/m [9; 10] 55,1 %	1,17 $\pm$ 0,17 ^a [1; 2] 6,9 %	3,0 $\pm$ 0,0*/*/a/m [3; 3]
Арфазетин	16,8 $\pm$ 0,60*/* [15; 19] 100 %	5,67 $\pm$ 0,33 [#] [5; 7] 34,11 %	8,67 $\pm$ 0,49*/* [8; 11] 51,76 %	2,33 $\pm$ 0,42 ^{###} [1; 4] 14,13 %	2,33 $\pm$ 0,21*/*/### [2; 3]
Метформін	17,0 $\pm$ 0,37*/* [16; 18] 100 %	5,5 $\pm$ 0,22 [#] [5; 6] 32,95 %	10,5 $\pm$ 0,22*/*/aa [10; 11] 60,23 %	1,17 $\pm$ 0,31 ^a [0; 2] 6,82 %	2,5 $\pm$ 0,22 ^{***/*/*} [2; 3]

Примітка. Достовірні відмінності: з групою інтактного контролю – * p < 0,001, ** p < 0,01, *** p < 0,05; з групою контрольної патології – # p < 0,001, ## p < 0,01, ### p < 0,05; з групою Арфазетину – ^a p < 0,05, ^{aa} p < 0,01; з групою Метформіну – ^m p < 0,05, ^{mm} p < 0,01.

Гістологічна картина печінки інтактних щурів мала типову для цих тварин будову. Часточковий малюнок тканини змазаний унаслідок майже повної відсутності сполучнотканинних міжчасточкових прошарків. Межі часточок визначали за триадами. Зони триад (портальних трактів) вузькі. Гепатоцити в часточках розташовані тяжами, що мали чітку радіальну спрямованість. Клітини зберігали характерні форму та розмір, цитоплазма рівномірно профарбована, оптично щільна, не містила вкраплень, яких було б видно за світлової мікроскопії. Ядра гепатоцитів нормохромні, центрально розміщені, містили 1, рідше 2 ядерця. Кількість двоядерних гепатоцитів достатня. Внутрішньочасточкові гемокапіляри помірно розширені, містили звичайну кількість лімфоїдних клітин. Зоряні ретикулоендотеліоцити (клітини Купфера) без особливостей, мітозів у клітинах не спостерігали. Стан епітелію жовчних протоків, ендотелію термінальних гілок кровоносних судин у триадах, а також ендотелію інших кровоносних судин у межах норми. ШИК-реакція засвідчила, що цитоплазма гепатоцитів рівномірно та щільно заповнена дрібними гранулами глікогену, фарбування суданом не виявило накопичення жиру в клітинах (рис. 2).

Після введення стрептозотоцину і нікотинамиду на тлі попередньої довготривалої ВКД інсулярний апарат щурів зазнав значних змін. У візуально нечисленних ПО видно різного ступеня виразності вакуолізацію β -клітин. Часто спостерігали нерівномірне спустошення центральних ділянок острівців. Частина ядер інсуліноцитів гіпертрофована, деформована. Спостерігали й тотально зруйновані ПО. У деяких ПО видно вогнищеву проліферацію α -клітин у місцях типової їх локалізації. У поодиноких острівцях у спустошених центральних зонах були дуже дрібні групки клітин з невеликим темним компактним ядром та вузькою смужкою цитоплазми. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило достатньо виразне зменшення, нерівномірність забарвленості цитоплазми або відсутність її у більшості β -клітин (рис. 3). Межа між ПО і навколишньою ацинарною паренхімою іноді не чітка. Морфометрично об'ємна щільність острівців проти ІК знизилася у 2,1 раза ($p < 0,001$). Перевагу мали дрібні острівці. Частка їх збільшилась у 2 рази ($p < 0,01$). Частка середніх ПО зменшилась у 3,96 рази ($p < 0,001$). Середня інтенсивність фарбування альдегід-фуксином β -клітин у острівцях становила 1,5 бала ($p < 0,001$) (табл.).

Змін структурної організації екзокринної складової підшлункової залози щурів не виявили. Помітили лише вогнищеву більш виразну асинхронність функціональної активності екзокринних панкреатитів (коливання співвідношення базofil'ної та оксифілії зони у цитоплазмі клітин частини ацинусів було в межах від 1:0,25-0,5 до 1:3 та більше). У деяких тварин місцями виявили перидуктальну круглоклітинну інфільтрацію.

У печінці щурів групи КП спостерігали різної виразності дифузні дистрофічні та некробіотичні зміни гепатоцитів. Цитоплазма гепатоцитів містила вакуолі та світлі, з нечіткими абрисами зони, набрякла. Місцям видно зони дисконкомплексції печінкових балок з дрібними осередками крововиливів. У деяких клітинах ядра не пофарбовані, лізовані. Візуалізовано збільшення гепатоцитів з деформованими ядрами. Доволі часто спостерігали апоптозно змінені гепатоцити у вигляді так званих тілець Каусильмена (рис. 4). Центральні вени та частина судин портальних трактів застійно повнокровні. Синусоїдальні капіляри часто не прозиралися. Портальні тракти розширені, інфільтровані лімфо-гістіоцитарними елементами. Наявність двоядерних клітин зорозовлено зменшена. Унаслідок ШИК-реакції виявили виразне зменшення інтенсивності фарбування цитоплазми гепатоцитів (зменшення глікогену), а після фарбування суданом – накопичення жирових крапель (рис. 5).

Наведена мікроскопічна картина є морфологічним відображенням токсико-дистрофічних змін з порушенням жирового, вуглеводного та білкового обміну [16].

Введення щурам з експериментальним ЦД2 досліджуваної фітокомпозиції позитивно вплинуло на стан ПО. У більшості ПО β -клітини візуально зберігали морфологічно нормальний вигляд, без ознак дистрофії та дегенерації. Клітини рівномірно заповнювали острівцеві, зберігаючи типове розташування тяжами. Обмежена і кількість острівців з проліферацією α -клітин у типових місцях їх розташування. Проліферація клітин з дрібними темними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми виражена в частині острівців у помітно більшому ступені, ніж у КП. Лише в невеликій кількості ПО видно помірну вакуолізацію β -клітин, гніздове розрідження у їх розташуванні. Цілоком спустошених ПО не спостерігали. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило, що в помітній частині β -клітин острівців відновлено достатньо

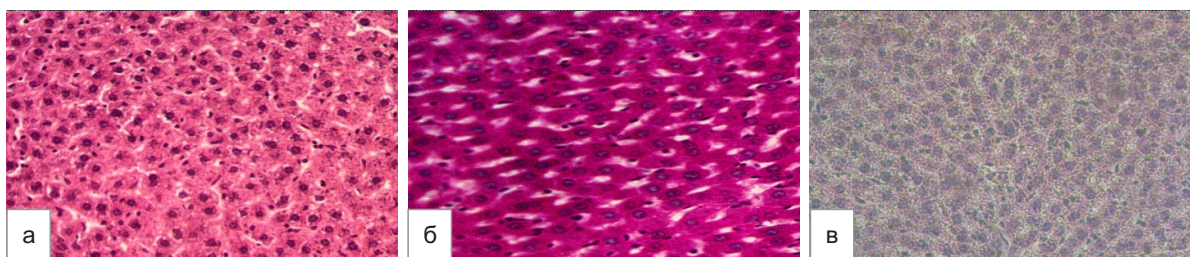


Рис. 2. Печінка інтактного щура: а) – нормальний балковий малюнок гепатоцитів (гематоксилін-еозин); б) – рівномірний розподіл гранул глікогену в цитоплазмі клітин (ШИК-реакція за Мак-Манусом); в) – відсутність жиру в цитоплазмі гепатоцитів (судан IV), x250

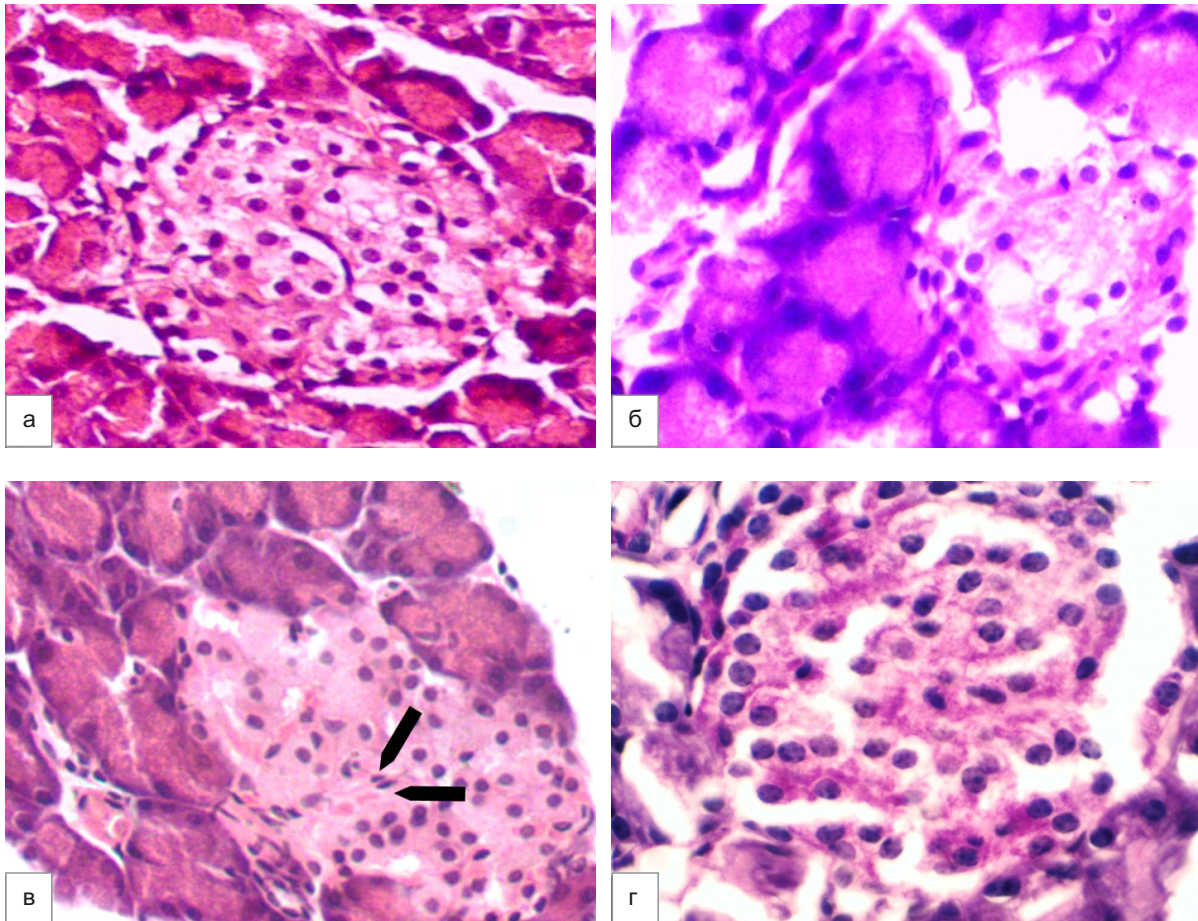


Рис. 3. Підшлункова залоза щура після введення стрептозотозину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД: а) – вакуолізація β -клітин в острівці; б) – спустошення β -клітин в острівці; в) – дуже дрібні групи клітин з невеликим темним компактным ядром та вузькою смужкою цитоплазми; г) – зменшення інтенсивності альдегід-фуксинофільного фарбування β -клітин острівця; а-в) – гематоксилін-еозин, x250; г) – альдегід-фуксин за Гоморі-гематоксилін, x400

рівномірне виразне забарвлення цитоплазми, хоча ще в певній частині клітин вона слабко забарвлена (рис. 6).

Морфометрично збільшилась на 70 % ($p < 0,001$) оптична щільність ПО проти контрольної патології. Частка дрібних ПО зменшилась на 46,46 % ($p < 0,01$), а середніх ПО збільшилась у 2,9 раза ($p < 0,001$) (табл.). Виразність фарбування альдегід-фуксином становила 3 бали ($p < 0,001$) (табл.).

Помітних змін у стані екскреторної складової залозистої паренхіми не виявили.

Спостерігали позитивний вплив фітокомпозиції і на гістологічний стан печінки щурів. Радіальний балковий малюнок гепатоцитів не змінений. Не візуалізувалися цитоліз та каріолізис, прояви апоптозу. Цитоплазма клітин рівномірно забарвлена, не містила вакуолей та просвітлених зон. У більшості тварин не проглядалися (або вони були суттєво зменшені)

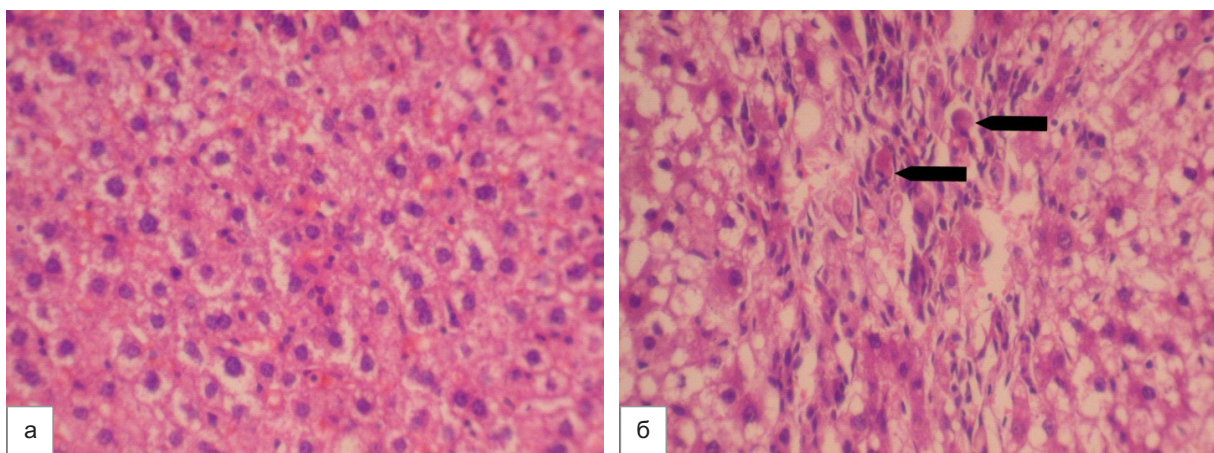


Рис. 4. Печінка щура після введення стрептозотозину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД: а) – дисконфлексція печінкових балок, цитоплазма гепатоцитів містить вакуолі та світлі, з нечіткими абрисами зони; б) – тільця Каунсільмена серед дистрофічно змінених гепатоцитів; гематоксилін-еозин, x250

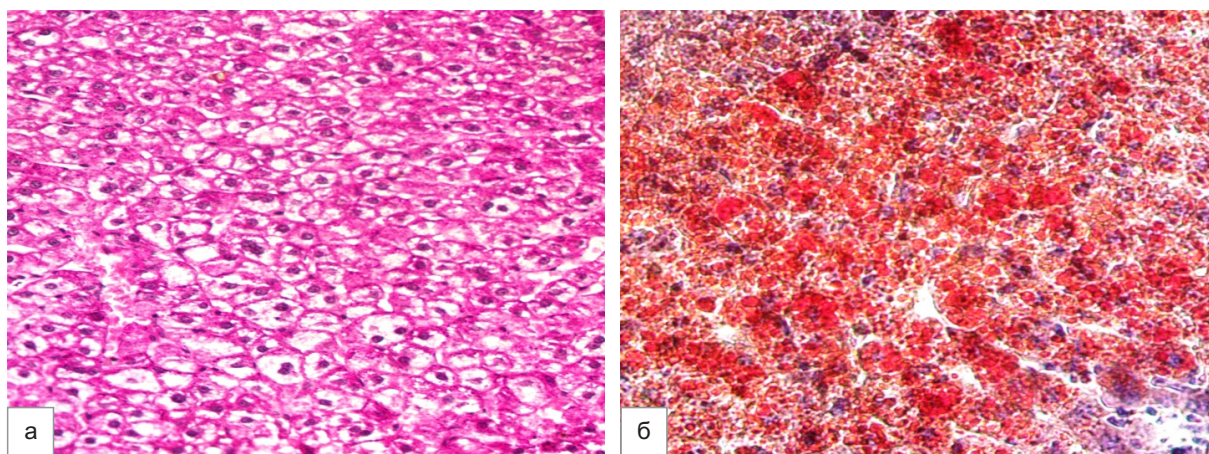


Рис. 5. Печінка щура після введення стрептозотоцину з нікотинамідом на тлі попередньої довготривалої ВКД:
а) – зменшення гранул глікогену в цитоплазмі клітин (ШИК-реакція за Мак-Манусом, x200);
б) – накопичення жиру в гепатоцитах (судан IV, x250)

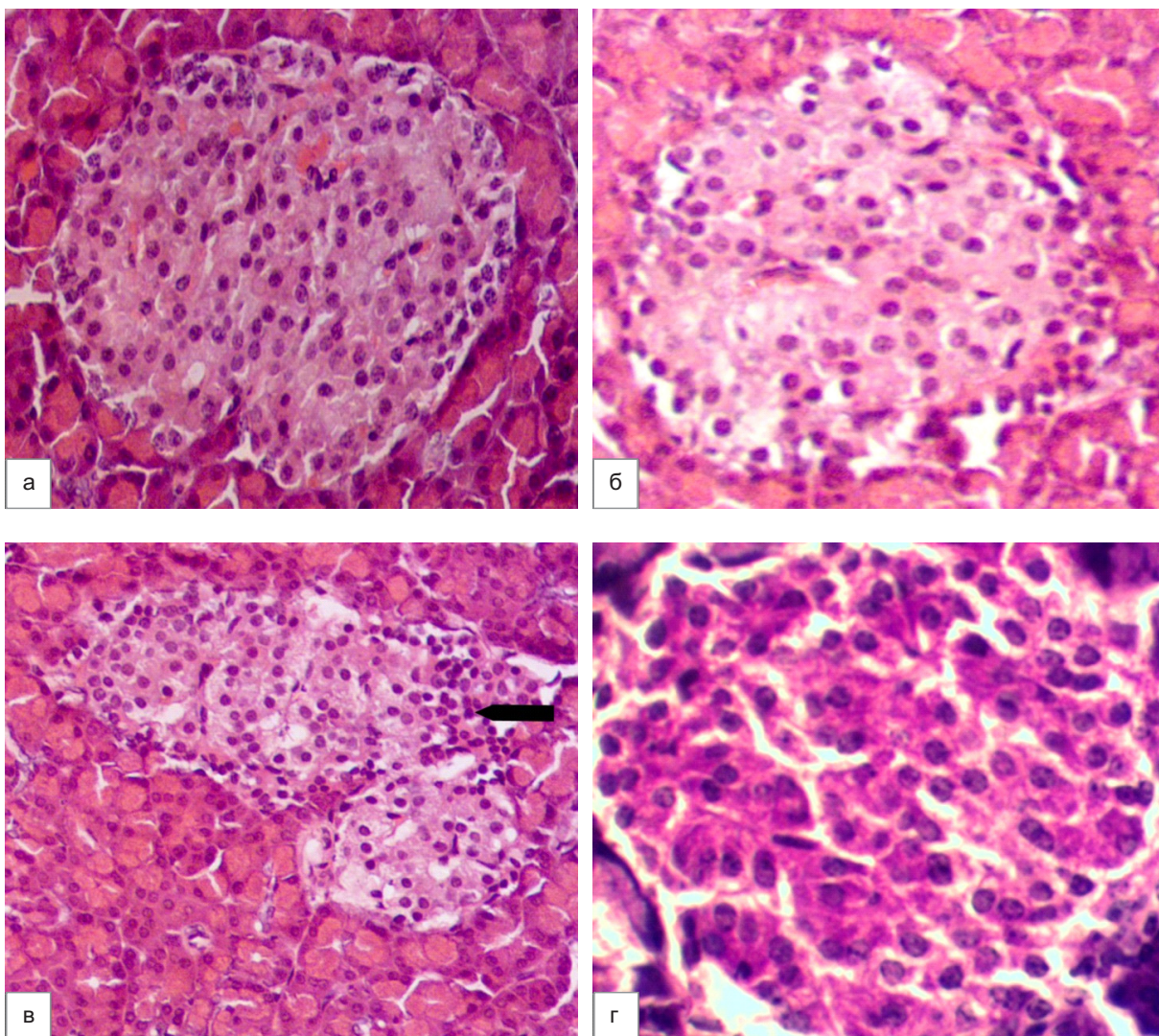


Рис. 6. Підшлункова залоза щура з ЦД2 після введення фітокомпозиції: а) – наблизений до норми панкреатичний острівцеві (x200);
б) – помірне спустошення та вакуолізація β -клітин в острівці (x250); в) – проліферація клітин з дрібними темними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми; г) – достатньо виразне відновлення фіолетового забарвлення цитоплазми багатьох β -клітин (x400);
а-в) – гематоксилін-еозин, г) – альдегід-фуксин за Гоморі-гематоксилін

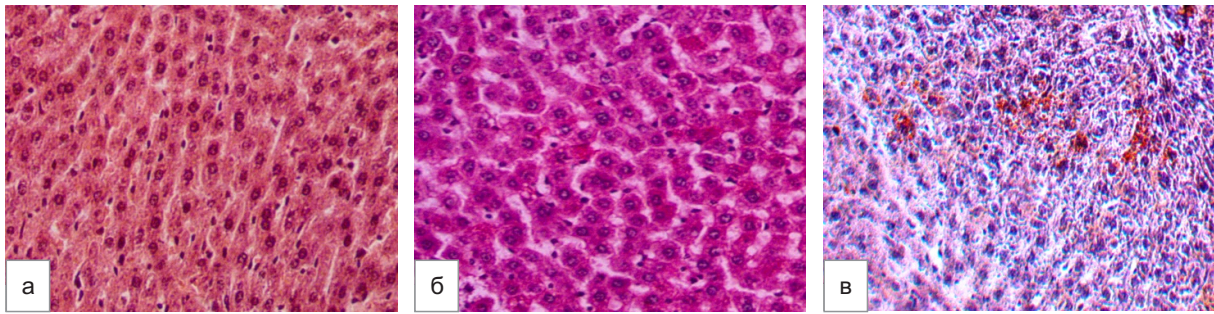


Рис. 7. Печінка щура з ЦД2 після введення фітокомпозиції: а) – нормальний стан гепатоцитів (гематоксилін-еозин, x250); б) – відновлена здатність клітин до накопичення глікогену (ШИК-реакція, x250); в) – накопичення дрібних крапель ліпідів у цитоплазмі окремих груп клітин (судан IV, x400)

мікроциркуляторні розлади. Пул двоядерних гепатоцитів зорзово збільшений, багато клітин з анізонуклеозом (коливання розміру ядер – збільшення розміру – посилення синтезу білка). Круглоклітинна інфільтрація портальних трактів відсутня. Майже відновлена здатність клітин до накопичення глікогену, практично відсутня жирова дистрофія гепатоцитів – накопичення дрібних крапель ліпідів виявили в цитоплазмі окремих груп клітин (рис. 7).

Після аналогічного за схемою введення збору «Арфазетин» частина ПО містила дегенеративно та дистрофічно змінені β -клітини, була спустошена, у них спостерігали помірну проліферацію клітин з дрібними компактними темними ядрами і невеликою смужкою цитоплазми. Виразність проліферації α -клітин у різних острівцях коливалась. Морфофункціональний стан значної кількості острівців візуально відповідав нормальному. У ПО загалом збільшена виразність альдегід-фуксинофільного рівномірного фарбування β -клітин, хоча в частині ПО окремими дрібними зонами було доволі слабке забарвлення клітин або його відсутність (рис. 8). Помітних змін екзокринної паренхіми в більшості щурів не виявили, іноді спостерігали дуже помірну круглоклітинну вогнищеву інфільтрацію міжацинарної строми.

Морфометричний аналіз засвідчив підвищення на 63 % ($p < 0,001$) оптичної щільності ПО проти КП. Частка дрібних і середніх ПО змінювалась щодо патології: у 2,2 (менше) та у 2,6 раза (більше, $p < 0,001$) відповідно. Інтенсивність альдегід-фуксинофільного забарвлення становила 2,3 бала ($p < 0,05$) (табл.).

Гістоструктура печінкової паренхіми майже в половини щурів після введення збору «Арфазетин» була наближеною до інтактного контролю. Гепатоцити морфологічно повноцінні, спостерігали виразний анізонуклеоз. Більше пул двоядерних клітин. У решті дистрофія була вогнищовою. У зонах з найбільш виразними ознаками дистрофії балковий малюнок іноді порушений. Інтенсивність ШИК-реакції в цитоплазмі гепатоцитів у різних щурів коливалась від нормальної до зниженої. Жирові вакуолі мали дрібнокрапельний характер, виявили мозаїчно у всіх щурів (рис. 9).

Мікроскопічна картина інкреторного апарату щурів з ЦД2 після введення таблеток «Метформін» була така: частина ПО була візуально не змінена, частина – з ознаками зональної спустошеності й дистрофії клітин; проліферації α -клітин не виявили. Проліферація клітин з темними невеликими ядрами та вузькою смужкою цитоплазми в деяких острівцях виражена. Фарбування альдегід-фуксином засвідчило достатню насиченість цитоплазми значної кількості β -клітин специфічними гранулами (рис. 10). Екзокринна паренхіма без помітних змін.

Проведена морфометрія засвідчила, що оптична щільність панкреатичних острівців збільшилась проти контрольної патології на 65 % ($p < 0,001$). Достатньо показово зменшилась частка дрібних ПО (у 2,3 раза, $p < 0,05$) та збільшилась частка середніх ПО (у 3,2 раза, $p < 0,001$) (табл.). Виразність альдегід-фуксинофільного забарвлення становила 2,5 бала ($p < 0,01$) (табл.).

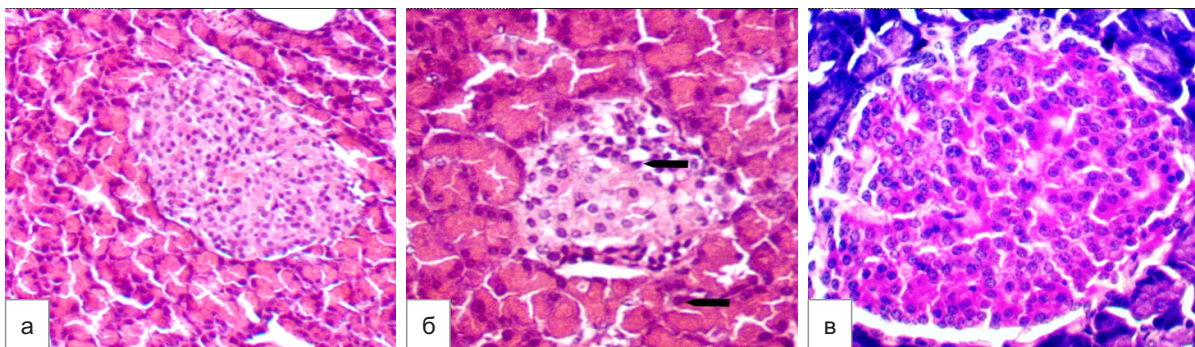


Рис. 8. Підшлункова залоза щура з ЦД2 після введення збору «Арфазетин»: а) – нормальний панкреатичний острівець (x200); б) – помірне спустошення та вакуолізація β -клітин в острівці, проліферація клітин з дрібними компактними темними ядрами і невеликою смужкою цитоплазми (x250); в) – доволі виразне фіолетове забарвлення цитоплазми більшості β -клітин (x250); а-б) – гематоксилін-еозин, в) – альдегід-фуксин за Гоморі-гематоксилін

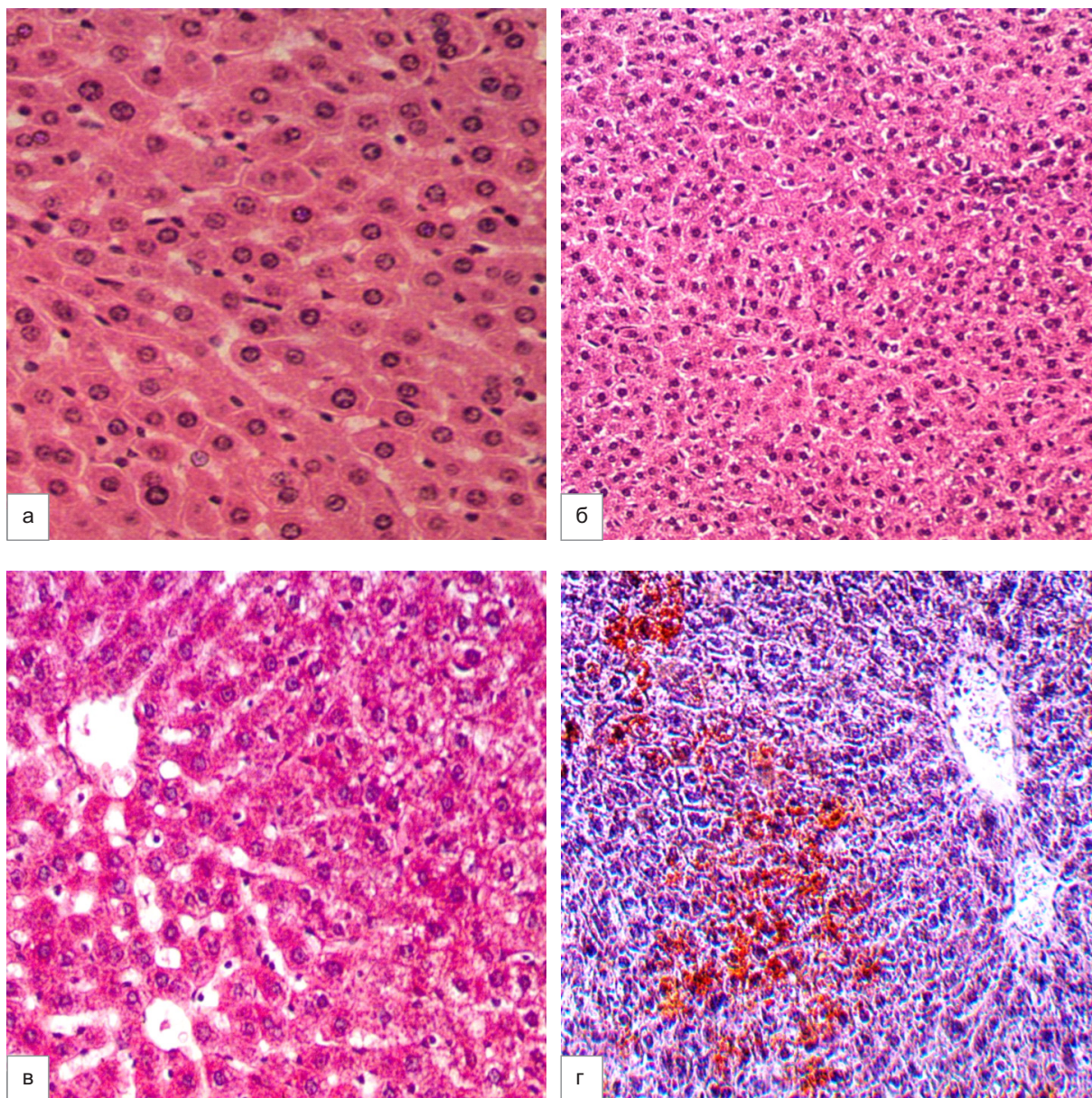


Рис. 9. Печінка щура з ЦД2 після введення збору «Арфазетин»: а) – стан печінкової паренхіми наближений до нормального (x250); б) – помірна дистрофія гепатоцитів (x200); в) – мозаїчне відкладення дрібних жирових крапель у гепатоцитах (x250); а-б) – гематоксилін-еозин, в) – ШИК-реакція, г) – судан IV

Помітне покращення спостерігали і в стані печінки цих щурів (рис. 11). Будова печінкових балок збережена, наближена до типової. Самі гепатоцити нормального розміру, ядра клітин нормохромні, з чіткими великими ядерцями, кількість яких іноді становила 2-3. Виявили чіткий анізонуклеоз. Ознаки гепатолізу дуже рідкі, пул двоядерних клітин збільшений. Мікроциркуляція тканини покращена. Фарбування на глікоген виявило виразне відновлення інтенсивності ШИК-реакції; фарбування суданом – дуже дрібні ліпідні краплі в окремих гепатоцитах, які не порушували цілісності клітин.

Отже, на основі отриманих даних можемо виснувати про таке. Введення розчину стрептозоточину внутрішньочеревно, одноразово, з попереднім (за 15 хв) введенням нікотинамід у інтраперитоніально на тлі утримування щурів на високожировій дієті підтверджує важливість аліментарного фактора для розвитку

ЦД2 та призводить до пригнічення інсулінпродуктивного апарату підшлункової залози тварин, розвитку токсико-дистрофічних змін печінки з порушенням жирового та вуглеводного обміну. У підшлунковій залозі візуалізується зменшення оптичної щільності островців, збільшення частки дрібних та зменшення частки середніх ПО; виникнення дистрофічних і деструктивних змін островцевих клітин, спустошення деяких островців. Із цим відбувається виразне зменшення інтенсивності фарбування цитоплазми β -клітин альдегід-фуксином (вмісту інсуліну).

З літературних джерел [17] відомо, що існує субпопуляція панкреатичних β -клітин невеликого розміру з високою мітотичною активністю і низькою чутливістю до стрептозоточину. Можливо, спостережувані нечисленні клітини з дрібними компактними ядрами та вузькою смужкою цитоплазми в місцях спустошення в островцях і є ці малі β -клітини, а поява

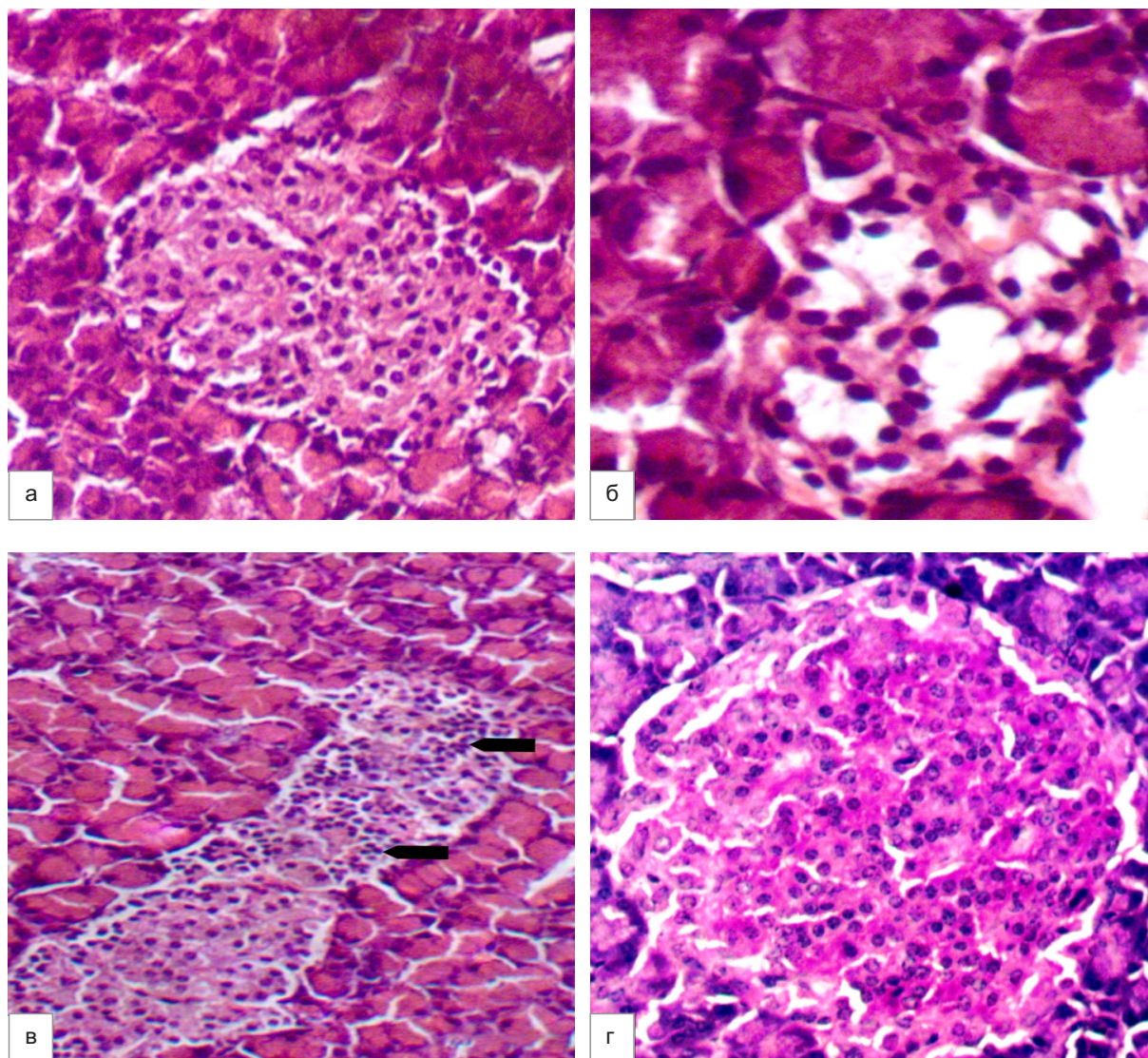


Рис. 10. Підшлункова залоза щура з ЦД2 після введення таблеток «Метформін»: а) – неушкоджений панкреатичний острівцев (x200); б, в) – виразна вакуолізація цитоплазми β -клітин, хаотичне розташування клітин (x400); г) – відновлення фіолетового забарвлення цитоплазми більшості β -клітин (x200); а-в) – гематоксилін-еозин, г) – альдегід-фуксин за Гоморі-гематоксилін

їх – прояв регенераційних процесів, намагання відновити пул β -клітин.

Лікувально-профілактичне введення досліджуваної фітокомпозиції позитивно вплинуло на прояви морфологічних ознак порушення структурно-функціонального стану ендокринної складової підшлункової залози щурів. Застосування фітозасобу призвело до збільшення оптичної щільності ПО (якщо порівнювати з КП), зменшення кількості дрібних

острівців і зростання середніх, покращення морфофункціонального стану β -клітин: зменшення ознак дистрофічних змін, відновлення альдегід-фуксину-фільного фарбування цитоплазми (вмісту гранул інсуліну в цитоплазмі). Фітокомпозиція мала стимулювальний вплив на регенераційні процеси в інсулін-продукувальному апараті підшлункової залози щурів – виразність проліферації малих β -клітин у ПО значно зростала проти КП.

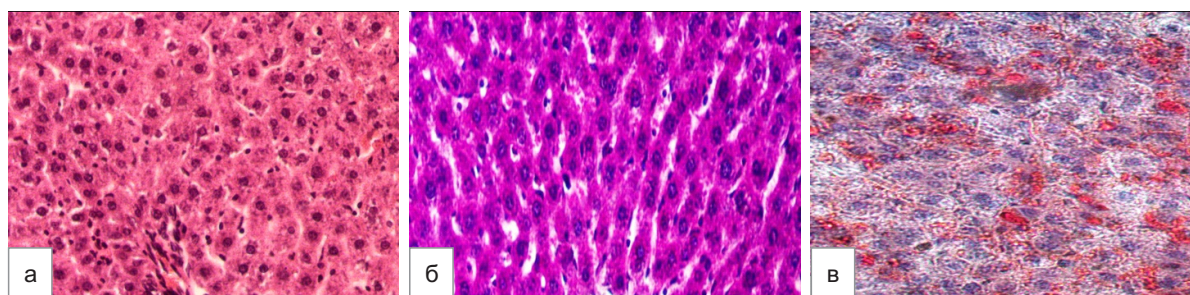


Рис. 11. Печінка щура з ЦД2 після лікувального введення таблеток «Метформін»: а) – відновлення нормальної структури паренхіми (гематоксилін-еозин); б) – рівномірне накопичення гранул глікогену в гепатоцитах (ШИК-реакція); в) – дуже дрібні жирові вкраплення в цитоплазмі частини клітин (судан IV); x250

Досліджуваний засіб на морфологічному рівні виявив гепатопротекторні властивості, значно зменшуючи прояви токсико-дистрофічної дії діабетогенів та відновлюючи жировий і вуглеводний обмін у гепатоцитах.

Висновки та перспективи подальших досліджень. За виразністю позитивного впливу на стан ендокринної складової підшлункової залози й печінки

щурів на зазначеній експериментальній моделі фітокомпозиція не поступається референс-препарату «Метформін» та перевищує референс-препарат «Арфазетин». Досліджувана фітокомпозиція є перспективним засобом для лікування цукрового діабету 2 типу і потребує подальшого вивчення.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. AlOtaibi A. A., Almesned M., Alahaideb T. M. Assessment of diabetes-related distress among type 2 diabetic patients. *J Family Med Prim Care*. 2021. Vol. 10, № 9. P. 3481-3489.
2. Global Burden of Disease Study 2017 / Institute for health metrics and evaluation, Seattle. Washington, 2018. URL: https://www.healthdata.org/sites/default/files/files/policy_report/2019/GBD_2017_Booklet.pdf (Date of access: 20.11.2023).
3. Nasheeta Peer, Yuseantha Balakrishna, Solange Durao. Screening for Type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020. Vol. 5, № 5. CD005266. DOI: 10.1002/14651858.CD005266.pub2/information.
4. Атлас: Діабет в Україні / М. Д. Тронько [та ін.]. Київ : ІНДАР, 2021. Вип. 1. 136 с.
5. McCreight L. J., Bailey C. J., Pearson E. R. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*. 2016. Vol. 59, № 3. P. 426-435.
6. Kanat M., DeFronzo R. A., Abdul-Ghani M. A. Treatment of prediabetes. *Diabetes*. 2015. Vol. 6, № 12. P. 1207-1222.
7. Blumberg J. B., Camesano T. A., Cassidy A. Cranberries and their bioactive constituents in human health. *Adv. Nutr.* 2013. Vol. 4. P. 618-632.
8. Schaffer S., Won Kim H. Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomol Ther (Seoul)*. 2018. Vol. 26, № 3. P. 225-241.
9. de l'Europe C. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *European Treaty Series*. № 123. Strasbourg, 1986. 11 p. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (Date of access: 20.11.2023).
10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. L276/33. P. 33-79. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj> (Date of access: 20.11.2023).
11. Про внесення змін до деяких законів України щодо спрощення умов ведення бізнесу в Україні : Закон України № 1759-VI від 15.12.2009. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1759-17#Text> (дата звернення: 20.11.2023).
12. Islam S., Choi H. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study. *Pharmacology*. 2007. Vol. 79. P. 243-249.
13. Maynard R., Downes N., Finney B. Histological techniques: an introduction for beginners in toxicology. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2014. 334 p.
14. Kiernan J. A. Histological and histochemical methods: theory and practice. 5th ed. Banbury : Scion Publishing, 2015. 571 p.
15. Layton C., Bancroft J. D., Suvana S. K. Fixation of tissues. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 8 th ed. St. Louis : Elsevier, 2019. P. 40-63.
16. Dilworth L., Facey A., Omoruyi F. Diabetes Mellitus and Its Metabolic Complications: The Role of Adipose Tissues. *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, № 14. P. 7644. DOI: 10.3390/ijms22147644.
17. Li V. L., Kim J. T., Long J. Z. Adipose tissue lipokines: Recent progress and future directions. *Diabetes*. 2020. Vol. 69. P. 2541-2548. DOI: 10.2337/dbi20-0012.

REFERENCES

1. AlOtaibi, A. A., Almesned, M., Alahaideb, T. M. (2021). Assessment of diabetes-related distress among type 2 diabetic patients. *J Family Med Prim Care*, 10(9), 3481-3489.
2. Global Burden of Disease Study (2017). Washington, 2018. Available at: https://www.healthdata.org/sites/default/files/files/policy_report/2019/GBD_2017_Booklet.pdf.
3. Nasheeta Peer, Yuseantha Balakrishna, Solange Durao. (2020). Screening for Type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*, 5(5), CD005266. doi: 10.1002/14651858.CD005266.pub2/information.
4. Tronko, M. D., Kozhan, N. Ye., Pkhakadze, O. H., Zabolotko, V. M., Krushynska, Z. H. Ocheretko, V. H. ta in. (2021). Atlas: Diabet v Ukraini. Vyp. 1. Kyiv: INDAR.
5. McCreight, L. J., Bailey, C. J., Pearson, E. R. (2016). Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia*, 59(3), 426-435.
6. Kanat, M., DeFronzo, R. A., Abdul-Ghani, M. A. (2015). Treatment of prediabetes. *Diabetes*, 6(12), 1207-1222.
7. Blumberg, J. B., Camesano, T. A., Cassidy, A. (2013). Cranberries and their bioactive constituents in human health. *Adv. Nutr.*, 4, 618-632.
8. Schaffer, S., Won Kim, H. (2018). Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomol Ther (Seoul)*, 26 (3), 225-241.
9. de l'Europe, C. (1986). European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *European Treaty Series*, 123. Strasbourg, 1986. 11 p. Available at: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, L276/33, 33-79. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>.
11. MOZ Ukrainy. (2009). Zakon Ukrainy № 1759-VI vid 15.12.2009. Pro vnesennia zmin do deiakykh zakoniv Ukrainy shchodo sproshchennia umov vedennia biznesu v Ukraini.
12. Islam, S., Choi, H. (2007). Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study. *Pharmacology*, 79, 243-249.
13. Maynard, R., Downes, N., Finney, B. (2014). *Histological techniques: an introduction for beginners in toxicology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry.

14. Kiernan, J. A. (2015). *Histological and histochemical methods: theory and practice*. 5th ed. Banbury: Scion Publishing.
15. Layton, C., Bancroft, J. D., Suvana, S. K. (2019). *Fixation of tissues. Bancroft's theory and practice of histological techniques*. 8 th ed. St. Louis: Elsevier.
16. Dilworth, L., Facey, A., Omoruyi, F. (2021). Diabetes Mellitus and Its Metabolic Complications: The Role of Adipose Tissues. *Int J Mol Sci.*, 22(14), 7644. doi: 10.3390/ijms22147644.
17. Li, V. L., Kim, J. T., Long, J. Z. (2020). Adipose tissue lipokines: Recent progress and future directions. *Diabetes*, 69, 2541-2548. doi: 10.2337/dbi20-0012.

Відомості про авторів:

Кононенко Н. М., доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри нормальної та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: kononenkonn76@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3850-6942>

Анісімова М. С., аспірантка кафедри нормальної та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: pathology@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-9713>

Information about authors:

Kononenko N. M., Doctor of Medicine (Dr. habil.), professor, head of the Department of Normal and Pathological Physiology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine E-mail: kononenkonn76@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3850-6942>

Anisimova M. S., postgraduate student of the Department of Normal and Pathological Physiology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: pathology@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-9713>

Надійшла до редакції 27.08.2024 р.

O. Yu. Maslov, M. A. Komisarenko, S. V. Kolisnyk

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The study of the total antioxidant capacity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) herb

Aim. To determine the total antioxidant capacity of St. John's Wort herb.

Materials and methods. The content of phenolic compounds, anthraquinone derivatives, flavonoids, and derivatives of hydroxycinnamic acids was determined by the spectrophotometric analysis, while organic acids were identified by the alkalimetric method; the antioxidant activity of extracts obtained was evaluated by the potentiometric method.

Results and discussion. The total antioxidant capacity of St. John's Wort herb was 91.35 mmol-equiv./m^{dry weight}, the total content of phenolic compounds was 22.70 mg of gallic acid/mL, anthraquinone derivatives – 0.46 mg of hypericin/mL, flavonoids – 8.10 mg of rutin/mL, derivatives of hydroxycinnamic acids – 7.90 mg of chlorogenic acid/mL and organic acids – 10.80 mg of citric acid/mL in St. John's Wort herb extracts obtained during the sequential exhaustive extraction. The correlation analysis showed a very high positive correlation between the antioxidant activity and the total content of phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acid derivatives in St. John's Wort herb extracts.

Conclusions. The total antioxidant capacity of *H. perforatum* herb was 91.35 mmol-equiv./m^{dry weight}. The results of the analysis of the BAS content and the antioxidant activity of *H. perforatum* herb extracts revealed that the aqueous extract had a significant content of phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acids, organic acids and the antioxidant activity, while anthraquinone derivatives dominated in 96 and 60 % EtOH extracts. The quantitative analysis showed that flavonoids and hydroxycinnamic acids dominated among phenolic compounds. The results can be applied in developing optimal technologies for obtaining drugs based on the extract of *H. perforatum* herb.

Keywords: St. John's Wort herb; total antioxidant capacity; correlation; sequential

О. Ю. Маслов, М. А. Комісаренко, С. В. Колісник

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Дослідження сумарної антиоксидантної ємності трави звіробою (*Hypericum perforatum* L.)

Мета дослідження – визначити сумарну антиоксидантну ємність трави звіробою.

Матеріали та методи. Вміст фенольних сполук, антрахінонових похідних, флавоноїдів та похідних гідроксикоричних кислот визначали методом спектрофотометричного аналізу, тоді як органічні кислоти визначали алкаліметричним методом; антиоксидантну активність отриманих екстрактів оцінювали потенціометричним методом.

Результати та їх обговорення. Сумарна антиоксидантна ємність трави звіробою становила 91,35 ммоль-екв./г_{сух. зап.}, сумарний вміст фенольних сполук – 22,70 мг галлової кислоти/мл, антрахінонових похідних – 0,46 мг гіперіцину/мл, флавоноїдів – 8,10 мг рутина/мл, похідних гідроксикоричних кислот – 7,90 мг хлорогенової кислоти/мл, органічних кислот – 10,80 мг лимонної кислоти/мл в екстрактах трави звіробою, отриманих шляхом послідовного вичерпного екстрагування. Проведений кореляційний аналіз засвідчив дуже високу позитивну кореляцію між антиоксидантною активністю та сумарним вмістом фенольних сполук, флавоноїдів, похідних гідроксикоричних кислот в екстрактах трави звіробою.

Висновки. Сумарна антиоксидантна ємність трави *H. perforatum* становила 91,35 ммоль-екв./г_{сух. зап.}. Результати аналізу вмісту біологічно активних речовин та антиоксидантної активності екстрактів трави *H. perforatum* засвідчили, що водний екстракт мав значний вміст фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, органічних кислот та антиоксидантної активності, тоді як антрахінонові похідні домінували в екстрактах з 96 % та 60 % етанолом. Кількісний аналіз засвідчив домінування флавоноїдів та гідроксикоричних кислот серед фенольних сполук. Результати можуть бути використані для розробки оптимальних технологій отримання лікарських засобів на основі екстракту трави *H. perforatum*.

Ключові слова: трава звіробою; сумарна антиоксидантна ємність; кореляція; послідовне вичерпне екстрагування

Introduction. Reactive oxygen species (ROS) are produced by exogenous and endogenous ways, for instance, ROS actively generated during tricarboxylic acid pathway and the respiratory chain that linked to the inner mitochondrial membrane [1]. The production of ROS is important metabolites for the proper protection and survival of cells with physiological limits [2]. But, the disruption neutralization process of ROS may lead to increasing free radicals in cells and may induce oxidative stress. Oxidative stress associated with various pathologies in

humans, such as cancer, diabetes, chronic renal diseases, mitochondrial dysfunction, and neurodegenerative diseases, aging and DNA damage [3]. Therefore, it is recommended to consume foods and beverages, medications, dietary supplements that are rich in antioxidants to neutralize the negative effects of ROS [4].

Hypericum Taurin ex L. is a genus with 508 species worldwide. The most widespread species is *Hypericum perforatum* L. belonging to *Hypericaceae* family. *H. perforatum* is an herbaceous perennial plant native to Europe,

Asia and Africa [5]. *H. perforatum* contains derivatives of anthraquinone, flavonoids, prenylated phloroglucinols, hydroxycinnamic acids, volatile compounds and organic acids [6]. The main constituents of *H. perforatum* are hyperforin (2-4,3 %), hypericin (0.1-0.15 %), hyperoside (0.4-0.8 %), rutin (0.8-1.6 %) and catechins (0.5-0.9 %) [7]. Due to the rich chemical composition, *H. perforatum* herb is used in folk medicine for centuries. *H. perforatum* herb has a wide range of application in medicine: inflammation of bronchi, stomach ulcers, diabetes mellitus, wound healing, colds, obesity and depression [8].

The antioxidant activity of *H. perforatum* herb was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay [9], 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) [10] and ferric reducing antioxidant power (FRAP) [11]. However, no studies have been conducted to determine the total antioxidant capacity of *H. perforatum* herb. In our opinion, the total antioxidant capacity of the raw material is essential for the further development of medicines, dietary supplements and cosmetic products.

The aim of the study was to determine the total antioxidant capacity and the content of biologically active substances (BAS) of *H. perforatum* herb extracts obtained by the sequential exhaustive extraction.

Materials and methods. The study object was *Hypericum perforatum* herb collected in the places of its cultivation. The material was harvested in 2022 during the flowering period in the vicinity of the village of Ternova, Kharkiv region.

The pH meter HANNA 2550 (Germany) with a combined platinum electrode EZDO 50 PO (Taiwan) was applied for potentiometric measurements. The quantitative analysis of BAS was carried out on an UV – 1000 UV-spectrophotometer (China) with matched 1 cm quartz cells. Weighing was done using an AN100 digital analytical balance (AXIS, Poland) with $d = 0.0001$ g.

First 10.0 g of *H. perforatum* herb were ground to 1-2 mm in size. The extraction was carried out one by

one using distilled water, 20 % ethanol, 40 % ethanol, 60 % ethanol, 96 % ethanol and chloroform in the raw material/solvent ratio of 1/20 (m/v) on a water bath at 80°C with reflux for 1 hour. After cooling, the solutions were filtrated and concentrated to 20 mL by a rotary evaporator at 40 °C under vacuum.

The total phenolic compounds were quantified using the Folin-Ciocalteu method, with absorbance readings taken at 760 nm [12]. The total content of flavonoids was found by AlCl_3 assay where the absorbance was measured at 415 nm [12]. The total content of hydroxycinnamic acids derivatives was measured by the complex formation assay with NaNO_2 - Na_2MoO_4 , the absorbance was measured at 505 nm [12]. The total content of organic acids was determined using the acid-base titration and the potentiometric method to determine the end-point [12]. The total content of anthraquinone derivatives was determined by the molecular absorption analysis [13], the absorbance was measured at 591 nm.

The antioxidant activity of extracts was evaluated by the potentiometric method [14].

The Pearson's (r) correlation coefficient was used to analyze the correlation between the antioxidant activity and the amount of phenols, catechins, flavonoids, hydroxycinnamic acid derivatives and organic acids. The correlation coefficient takes a value in the range of -1 to +1. Correlation is very high if it is within the range from 0.90 to 1.00; from 0.70 to 0.90 is a high correlation; from 0.50 to 0.70 is a moderate correlation; from 0.30 to 0.50 is a low correlation; from 0.00 to 0.30 negligible correlation [15].

Result and discussion. The aqueous extract had the most significant content of phenolic compounds (12.50 mg/mL), while other *H. perforatum* herb extracts showed much lower content of these compounds. The total content of phenolic compounds of *H. perforatum* herb extracts was 22.70 mg/mL (Table 1).

The total content of anthraquinone derivatives was 0.46 mg/mL. The highest amount of anthraquinone

Table 1

The quantitative content (mg/mL) of anthraquinone derivatives, flavonoids, derivatives of hydroxycinnamic acids, organic acids, the antioxidant activity, and the dry residue calculated in the extraction of *H. perforatum* herb (the raw material/solvent ratio – 1:20)

Extractant	Dry residue, %	Total phenolic content calculated with reference to gallic acid	Total content of anthraquinone derivatives calculated with reference to hypericin	Total flavonoid content calculated with reference to rutin	Total content of hydroxycinnamic acid derivatives calculated with reference to chlorogenic acid	Total content of organic acids calculated with reference to citric acid	Antioxidant activity, mmol-equiv./m _{dry weight}
Distilled water	6.69 ± 0.07	12.50 ± 0.25	Not observed	4.60 ± 0.09	4.00 ± 0.08	5.00 ± 0.10	42.67 ± 0.43
20 % EtOH	4.45 ± 0.04	3.30 ± 0.07	Not observed	1.30 ± 0.03	1.20 ± 0.03	3.50 ± 0.07	11.56 ± 0.12
40 % EtOH	0.23 ± 0.01	1.70 ± 0.03	0.06 ± 0.001	0.60 ± 0.01	0.70 ± 0.01	0.60 ± 0.01	6.00 ± 0.06
60 % EtOH	0.56 ± 0.01	2.30 ± 0.05	0.20 ± 0.01	0.80 ± 0.01	0.70 ± 0.01	0.60 ± 0.01	14.56 ± 0.15
96 % EtOH	0.68 ± 0.01	2.30 ± 0.05	0.20 ± 0.01	0.80 ± 0.01	0.70 ± 0.01	0.60 ± 0.01	14.76 ± 0.15
Chloroform	0.23 ± 0.01	0.60 ± 0.01	Not observed	Not observed	0.60 ± 0.01	0.50 ± 0.01	1.80 ± 0.02
The total content of BAS	12.84	22.70	0.46	8.10	7.90	10.80	91.35

Table 2

The Pearson's (r) correlation coefficient between the antioxidant activity and the BAS content in *H. perforatum* herb extracts

	Total phenolic content	Total content of anthraquinone derivatives	Total flavonoid content	Total content of hydroxycinnamic acid derivatives	Total content of organic acids
Antioxidant activity	0.9723	Not conducted	0.9722	0.9412	0.6220

derivatives was observed in 60 % and 96 % EtOH extracts (0.20 ± 0.01 mg/mL), followed by 40 % EtOH extract, while in other extracts anthraquinone derivatives were not found. According to the results, the part of the total anthraquinone derivatives out of phenolic compounds was 2.0 % (Table 1).

The total flavonoid content was 8.10 mg/mL. The highest amount of flavonoids was observed in the aqueous extract (4.60 ± 0.09 mg/mL), followed by other EtOH extracts (Table 1). According to the results, the part of the total flavonoids out of phenolic compounds was 35.7 % (Table 1).

The total content of hydroxycinnamic acid derivatives was 7.90 mg/mL. The highest amount of hydroxycinnamic acid derivatives was observed in the aqueous extract (4.00 ± 0.08 mg/mL), followed by other EtOH extracts (Table 1). The part of the total hydroxycinnamic acid derivatives out of phenolic compounds was 35.0 % (Table 1).

The aqueous extract had the highest content of organic acids (5.00 ± 0.10 mg/mL), while other *H. perforatum* herb extracts demonstrated much lower content of organic acids. The total content of organic acids was 10.80 mg/mL (Table 1).

The total antioxidant capacity of *H. perforatum* herb was 91.35 mmol-equiv./m_{dry weight}. The antioxidant

activity of extracts increases in the following order: 96 % EtOH < 60 % EtOH < 40 % EtOH < 20 % EtOH < aqueous extract.

The Pearson's (r) coefficients between the antioxidant activity and phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acid derivatives, and organic acids were 0.9722, 0.9723, 0.9412, and 0.6220, respectively (Table 2).

In our previous study [16], we created and described an exhaustive sequential extraction approach. This type of extraction is based on the extraction of the same raw material with extractants of different polarity, for example, distilled water as a more polar extractant and ethanol solutions of different concentrations as a less polar extractant. The sequential exhaustive extraction allows extracting hydrophilic and lipophilic BAS completely. In this case, the raw material was not dried after the extraction; therefore, the volume of the extractant absorbed by the raw material was considered. Previously, the absorption coefficient for the raw material was found using the extraction with different solvents.

The antioxidant activity values of the extracts under study were estimated using the potentiometric method. This method was chosen due to its high sensitivity, rapid analysis procedure, and relatively low cost of equipment and reagents [17]. However, certain acceptance criteria are required to substantiate the choice of extraction

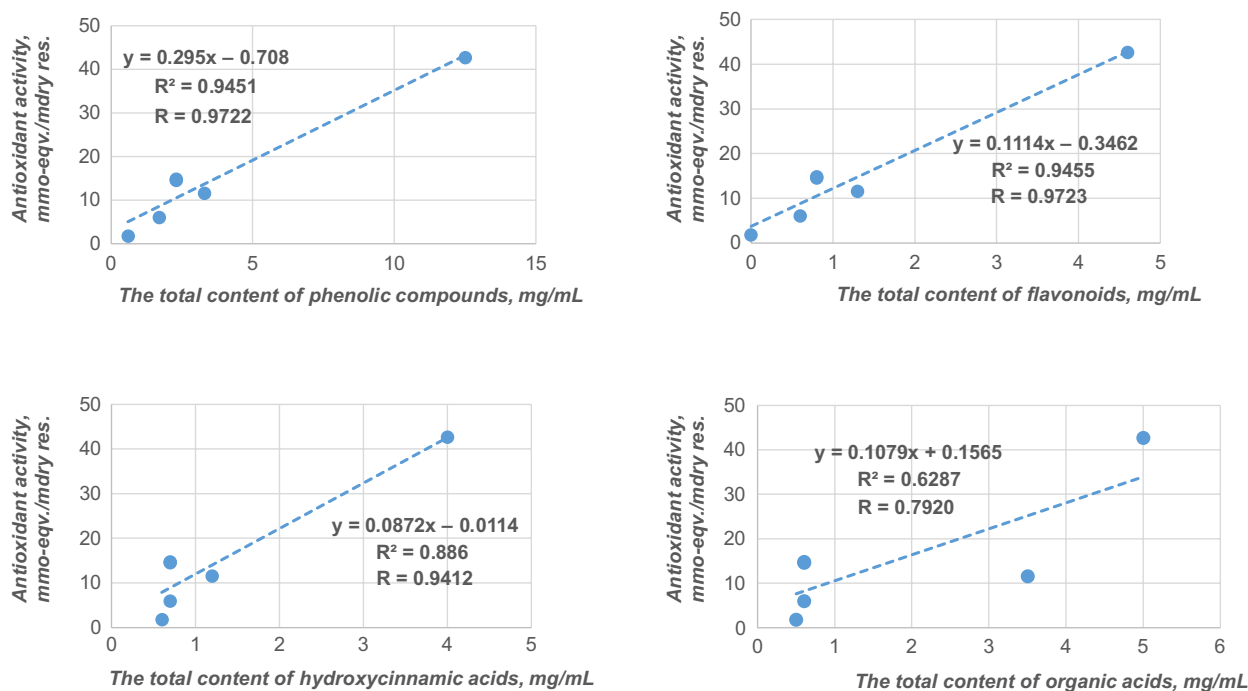


Fig. 1. The correlation relationship between the value of the antioxidant activity and the total content of phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acids and organic acids

conditions. According to the available literature, the main criterion for acceptability is to obtain the maximum content of phenolic and extractive compounds. We propose to use the total antioxidant capacity of the raw material as an acceptance criterion for choosing the optimal extraction conditions for several of reasons, firstly, the antioxidant activity and the content of phenolic compounds have a high positive correlation, secondly, the determination of the antioxidant activity requires less time than the determination of the content of BAS and extractive compounds. The term “the total antioxidant capacity of the raw material” means the total content of the antioxidant activity of all hydrophilic and lipophilic BAS contained in the raw material analyzed.

In our study, the highest value of the correlation coefficient was between the antioxidant activity and the total content of phenolic compounds ($r = 0.9723$), the second place was taken by flavonoids ($r = 0.9723$) and the third one – by derivatives of hydroxycinnamic acids ($r = 0.9412$), while the correlation with the total content of organic acids was the worst (Fig. 1, Table 1). The correlation analysis was not conducted in the case of anthraquinone derivatives because of the limited numbers of values (only

three points). Therefore, phenolic compounds, flavonoids and hydroxycinnamic acid derivatives affected the antioxidant activity of *H. perforatum* herb extracts.

Conclusions. The total antioxidant capacity of *H. perforatum* herb was determined by the potentiometric method. The results of the analysis of the BAS content and the antioxidant activity of *H. perforatum* herb extracts revealed that the aqueous extract had a significant content of phenolic compounds, flavonoids, hydroxycinnamic acids, organic acids and the antioxidant activity, while anthraquinone derivatives dominated in 96 and 60 % EtOH extracts. The quantitative analysis showed that flavonoids and hydroxycinnamic acids dominated among phenolic compounds. The correlation analysis revealed a strong positive linear relationship between the antioxidant activity and phenolic compounds, flavonoids and hydroxycinnamic acids, while the worst correlation was in the case of organic acids. The results can be applied in developing optimal technologies for obtaining drugs based on the extract of *H. perforatum* herb.

Conflict of interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives / Y. A. Hajam et al. *Cells*. 2022. Vol. 11, № 3. P. 552. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11030552> (date of access: 12.08.2024).
2. Merry T. L., Ristow M. Mitohormesis in exercise training. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016. Vol. 98. P. 123-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.11.032> (date of access: 12.08.2024).
3. Phaniendra A., Jestadi D. B., Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014. Vol. 30, № 1. P. 11-26. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0> (date of access: 12.08.2024).
4. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases / M. Sharifi-Rad et al. *Frontiers in Physiology*. 2020. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694> (date of access: 12.08.2024).
5. Barnes J., Arnason J. T., Roufogalis B. D. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): botanical, chemical, pharmacological and clinical advances. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018. Vol. 71, № 1. P. 1-3. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.13053> (date of access: 12.08.2024).
6. Linde K. St. John's Wort – an Overview. *Forschende Komplementärmedizin / Research in Complementary Medicine*. 2009. Vol. 16, no. 3. P. 1. DOI: <https://doi.org/10.1159/000209290> (date of access: 24.09.2024).
7. Wölfl U., Seelinger G., Schempp C. Topical Application of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*. 2013. T. 80, № 02/03. C. 109-120. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0033-1351019> (дата звернення: 12.08.2024).
8. Howland R. H. Update on St. John's Wort. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*. 2010. Vol. 48, № 11. P. 20-24. DOI: <https://doi.org/10.3928/02793695-20100930-99> (date of access: 12.08.2024).
9. Clinical relevance of St. John's wort drug interactions revisited / S. Nicolussi et al. *British Journal of Pharmacology*. 2020. Vol. 177, № 6. P. 1212-1226. DOI: <https://doi.org/10.1111/bph.14936> (date of access: 12.08.2024).
10. Impact of Origin and Biological Source on Chemical Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Properties of Some St. John's Wort Species (*Hypericum* spp., Hypericaceae) from the Central Balkans / B. Božin et al. *Molecules*. 2013. Vol. 18, № 10. P. 11733-11750. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules181011733> (date of access: 12.08.2024).
11. Antioxidant and antineurodegenerative properties of st. John's-wort dry extract / K. Savikin et al. *Lekovite sirovine*. 2017. № 37. P. 5-9. DOI: <https://doi.org/10.5937/leksi1737005s> (date of access: 12.08.2024).
12. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy* (2-ге вид.). (2014). State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines”.
13. Analytical methods for determination of anthraquinone dyes in historical textiles: A review / M. Shahid et al. *Analytica Chimica Acta*. 2019. Vol. 1083. P. 58-87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.009> (date of access: 12.08.2024).
14. Development and validation potentiometric method for determination of antioxidant activity of epigallocatechin-3-O-gallate / O. Maslov et al. *Pharmacologyonline*. 2021. № 2. P. 35-42.
15. Mukaka M. A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*. 2012. Vol. 24, № 3. P. 69-71.
16. Study of total antioxidant activity of green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) / O. Maslov et al. *Herba Polonica*. 2022. Vol. 68, no. 1. P. 1-9. DOI: <https://doi.org/10.2478/hepo-2022-0003> (date of access: 12.08.2024).
17. Maslov O. Y. Phytochemical study and standardization medicines with antioxidant activity from green tea leaves : thesis. Kharkiv, 2021. 199 p.
18. Study of total antioxidant capacity of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots / O. Y. Maslov et al. *Vitae*. 2023. Vol. 30, № 1. P. 1-8. DOI: <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v30n1a351486> (date of access: 12.08.2024).

REFERENCES

- Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., Pramodh, S., Alsulimani, A., Alkhanani, M. F., Harakeh, S., Hussain, A., Haque, S., & Reshi, M. S. (2022). Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*, 11(3), 552. <https://doi.org/10.3390/cells11030552>.
- Merry, T. L., & Ristow, M. (2016). Mitohormesis in exercise training. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 123-130. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.11.032>.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.
- Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Prakash Mishra, A., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docca, A. O., . . . Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>.
- Barnes, J., Arnason, J. T., & Roufogalis, B. D. (2018). St John's wort (Hypericum perforatum L.): botanical, chemical, pharmacological and clinical advances. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(1), 1-3. <https://doi.org/10.1111/jph.13053>.
- Linde, K. (2009). St. John's Wort – an Overview. *Forschende Komplementärmedizin / Research in Complementary Medicine*, 16(3), 1. <https://doi.org/10.1159/000209290>.
- Wölflle, U., Seelinger, G., & Schempp, C. (2013). Topical Application of St. John's Wort (Hypericum perforatum). *Planta Medica*, 80(02/03), 109-120. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1351019>.
- Howland, R. H. (2010). Update on St. John's Wort. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*, 48(11), 20-24. <https://doi.org/10.3928/02793695-20100930-99>.
- Nicolussi, S., Drewe, J., Butterweck, V., & Meyer zu Schwabedissen, H. E. (2020). Clinical relevance of St. John's wort drug interactions revisited. *British Journal of Pharmacology*, 177(6), 1212-1226. <https://doi.org/10.1111/bph.14936>.
- Božin, B., Kladar, N., Grujić, N., Anačkov, G., Samojlik, I., Gavarić, N., & Čonić, B. (2013). Impact of Origin and Biological Source on Chemical Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Properties of Some St. John's Wort Species (Hypericum spp., Hypericaceae) from the Central Balkans. *Molecules*, 18(10), 11733-11750. <https://doi.org/10.3390/molecules181011733>.
- Savikin, K., Alimovic, A., Zdunic, G., Zivkovic, J., Jankovic, T., Menkovic, N., & Duletic, L. (2017). Antioxidant and antineurodegenerative properties of st. John's-wort dry extract. *Lekovite sirovine*, (37), 5-9. <https://doi.org/10.5937/lekovite1737005s>.
- Derzhavna farmakopeia Ukrainy (The State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes, 2nd ed., in Ukrainian). 2nd ed. Kharkiv : State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines", 2014. 724 p.
- Shahid, M., Wertz, J., Degano, I., Aceto, M., Khan, M. I., & Quye, A. (2019). Analytical methods for determination of anthraquinone dyes in historical textiles: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1083, 58-87. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.009>.
- Maslov, O., Kolisnyk, S., Komissarenko, N., & Kostina, T. (2021). Development and validation potentiometric method for determination of antioxidant activity of epigallocatechin-3-O-gallate. *Pharmacologyonline*, (2), 35-42.
- Mukaka, M. (2012). A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, 24(3), 69-71.
- Maslov, O., Kolisnyk, S., Komissarenko, M., & Golik, M. (2022). Study of total antioxidant activity of green tea leaves (*Camellia sinensis* L.). *Herba Polonica*, 68(1), 1-9. <https://doi.org/10.2478/hepo-2022-0003>.
- Maslov, O. Y. (2021). *Phytochemical study and standardization medicines with antioxidant activity from green tea leaves* [thesis]. National University of Pharmacy.
- Maslov, O. Y., Komissarenko, M. A., Golik, M. Y., Kolisnyk, S. V., Altukhov, A. A., Baiurka, S. V., Karpushina, S. A., Tkachenko, O., & Iuliia, K. (2023). Study of total antioxidant capacity of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots. *Vitae*, 30(1), 1-8. <https://doi.org/10.17533/uea.vitae.v30n1a351486>.

Information about authors:

Maslov O. Yu., PhD, teaching assistant of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: alexmaslov392@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9256-0934>

Komisarenko M. A., PhD, teaching assistant of the Department of Pharmacognosy and Nutritiology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: a0503012358@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1161-8151>

Kolisnyk S. V., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: s_kolesnik@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6057-3447>

Відомості про авторів:

Маслов О. Ю., Ph.D., асистент кафедри загальної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: alexmaslov392@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9256-0934>

Комісаренко М. А., кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри фармакогнозії та нутриціології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: a0503012358@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1161-8151>

Колісник С. В., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри загальної хімії, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: s_kolesnik@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4920-6064>

Надійшла до редакції 12.08.2024 р.

V. M. Odyntsova¹, N. M. Polishchuk¹, O. M. Denysenko¹, V. I. Mozul¹,
V. V. Holovkin¹, N. V. Zhyvora², Ye. V. Rudko²

¹Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Zaporizhzhia, Ukraine

²National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

A comparative microbiological study of the essential oils from the genus *Rosa* L.

The medicinal plant raw material containing essential oils always attract the attention of scientists from various countries worldwide. The search for new sources of the plant raw material rich in biologically active substances, particularly volatile compounds, remains a relevant task in modern pharmaceutical science. Our focus has been drawn to *Rosa damascena* Mill. of the "Veselka" ("Rainbow") variety grown in the natural environment of Zaporizhzhia; its essential oil exhibits anti-inflammatory, antimicrobial, and antiseptic effects. To obtain a valuable medicinal plant raw material from *Rosa damascena* with a high content of essential oil, it was introduced into *in vitro* culture to produce aseptic regenerants, followed by their reintroduction into the natural environment.

Aim. To conduct a comparative microbiological study of essential oils from *Rosa damascena* of the "Veselka" variety grown via clonal micropropagation in *in vitro* culture and in the natural environment of Zaporizhzhia.

Materials and methods. The study objects were essential oils obtained by water distillation from rose petals cultivated using the method of clonal micropropagation in *in vitro* culture (at the premises of the Educational and Scientific Medical Laboratory Center with a vivarium) and the natural environment of Zaporizhzhia. The study of the antimicrobial activity was conducted in the microbiological laboratory of the Department of Microbiology, Virology, and Immunology at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Results and discussion. The essential oils from *Rosa damascena* grown via clonal micropropagation in *in vitro* culture and under natural conditions in Zaporizhzhia effectively inhibited the growth of *E. coli* (21.3 mm and 12.0 mm, respectively) and *S. aureus* (11.3 mm and 10.2 mm, respectively). The results of the study on *C. albicans* indicate a high antifungal activity in both essential oils; the mean inhibition zone diameter in the experiments using the oil from *Rosa damascena* cultivated in *in vitro* culture is less: 33.3 mm compared to 40 mm in the experiments with the oil from roses grown in the natural environment of Zaporizhzhia.

Conclusions. The method of clonal micropropagation of *Rosa damascena* of the "Veselka" variety is effective for obtaining a large amount of planting material in a short time with the subsequent reintroduction into the natural environment to expand the raw material base of valuable medicinal plants with a high content of essential oils. The results of the study of the antimicrobial activity of the essential oil of *Rosa damascena* of the "Veselka" variety cultivated through clonal micropropagation in *in vitro* culture have exhibited a high antimicrobial activity and moderate antifungal activity compared to the essential oil from *Rosa damascena* grown in the natural environment of Zaporizhzhia. Therefore, *Rosa damascena* Mill. of the "Veselka" variety cultivated under *in vitro* conditions is a promising source of essential oil with a high antibacterial effect in order to create new herbal formulations.

Keywords: *Rosa damascena* Mill. "Veselka" variety; clonal micropropagation in *in vitro* culture; essential oil; antimicrobial activity

В. М. Одинцова¹, Н. М. Поліщук¹, О. М. Денисенко¹, В. І. Мозуль¹, В. В. Головкін¹,
Н. В. Живора², Є. В. Рудько²

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

²Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Порівняльне мікробіологічне дослідження ефірної олії представників роду *Rosa* L.

Лікарська рослинна сировина, яка містить ефірні олії, завжди привертає увагу науковців з різних країн світу. Пошук нових джерел рослинної сировини з високим вмістом біологічно активних речовин, зокрема летких сполук, є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки. Нашу увагу привернула *Rosa damascena* Mill. сорту Веселка, вирощена в природному середовищі м. Запоріжжя, ефірна олія якої володіє протизапальною, антимікробною та антисептичною дією. Задля одержання цінної лікарської рослинної сировини *Rosa damascena* з високим вмістом ефірної олії було введено її в культуру *in vitro* для отримання асептичних регенерантів із подальшою реінтродукцією в природне середовище.

Метою роботи було порівняльне мікробіологічне дослідження ефірних олій троянди дамаської сорту Веселка, вирощеної методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro* та в природному середовищі в умовах м. Запоріжжя.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були ефірні олії, отримані методом гідродистиляції з пелюсток троянд, вирощених методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro* (на базі Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм) та в природному середовищі в умовах м. Запоріжжя. Дослідження протимікробної активності проведено на базі мікробіологічної лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Результати та їх обговорення. Ефірні олії троянди дамаської, вирощеної методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro* та в природному середовищі в умовах м. Запоріжжя, досить ефективно пригнічували зростання *E. coli* (відповідно 19,7 та 12,0 мм) та *S. aureus* (відповідно 11,3 та 10,2 мм). Результати дослідження з *C. albicans* свідчать про високу протигрибкову активність обох ефірних олій, середнє значення діаметра зони затримки зростання в експериментах з олією троянди дамаської, вирощеної в культурі *in vitro*, є меншим: 33,3 мм проти 40 мм в експериментах з ефірною олією троянди, вирощеної в природному середовищі в умовах м. Запоріжжя.

Висновок. Метод клонального мікророзмноження троянди дамаської сорту Веселка ефективний для одержання великої кількості посадкового матеріалу в короткі строки з подальшою реінтродукцією в природне середовище для розширення сировинної бази цінних лікарських рослин з високим вмістом ефірних олій. Результати дослідження протимікробної активності ефірної олії троянди сорту Веселка, вирощеної методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro*, проти ефірної олії троянди дамаської, вирощеної в природному середовищі в умовах м. Запоріжжя, засвідчили високу антибактеріальну та помірну протигрибкову активність. *Rosa damascena* Mill. сорту Веселка, вирощена в умовах *in vitro*, є перспективним джерелом отримання ефірної олії з високою антибактеріальною властивістю з метою створення нових фітопрепаратів.

Ключові слова: *Rosa damascena* Mill. сорту Веселка; клональне мікророзмноження в культурі *in vitro*; ефірна олія; протимікробна активність

Introduction. In modern medical practice, significant attention is paid to identifying additional sources of the medicinal plant material with antimicrobial and anti-inflammatory properties.

The Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) from the *Rosaceae* family widely used in medicine and cosmetology is of particular interest.

There are approximately several thousand garden varieties and hybrids of roses globally [2].

The Damask rose, *Rosa damascena* Mill., is a perennial branched shrub up to 1.5 meters high, with its raw material being petals (*Rosae petales*), which contain the essential oil in exogenous formations – oil glands [3].

A significant portion of the chemical composition of the Damask rose is represented by components of the essential oil, which is one of the primary biologically active compounds of this plant. The essential oil of *Rosa damascena* has a complex chemical nature and contains several dozen different components. According to studies by French and Bulgarian scientists, the main components of the essential oil from the Damask rose petals are citronellol (35-46 %), geraniol (10-26 %), nerol (9-18 %), and their acetates, which give it a characteristic fragrance [4-8].

Rose petals also contain such flavonoids as kaempferol, quercetin, apigenin, myricetin, rutin, roxyloside (kaempferol-3-O- β -D-glucopyranosyl (1-4)- β -D-xylopyranoside), afzelin, isoquercitrin, quercetin 3-O-galactoside, and quercetin 3-O-xyloside, cyanidin-3-O-beta-glucoside, quercetin gentiobioside; hydroxycinnamic acids – gallic, caffeic, chlorogenic; carotenoids – beta-carotene, rubixanthin; triterpenoids – ursolic acid, oleanolic acid, and quinic acids; vitamins (A, C, E, K), and minerals (potassium, calcium, sodium, phosphorus, magnesium) [1, 4, 9-11].

The antibacterial activity of the rose methanolic extract against *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium bovis*, and *Salmonella typhimurium*, as well as its antifungal activity, are associated with phenolic compounds and terpenes [12-15].

The literature sources suggest that acetone extracts have more pronounced antibacterial activity compared to methanolic extracts [14]. *Rosa damascena* has long

been used in traditional medicine as an anti-inflammatory, antispasmodic, antipyretic, tonic, and sedative agent for bronchitis, ulcers, depression, and skin damage [1, 7, 13, 14, 16], as well as for kidney, liver, and biliary tract diseases [17].

Inhalations with the rose oil are used for allergies, headaches, and migraines [7, 18], and the effectiveness of the oil in treating periodontitis and pulpitis has also been proven [19].

The results of the previous studies on the essential oil of *Rosa damascena* grown in *in vitro* conditions indicate its antibacterial effectiveness against enterobacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922), gram-negative bacteria that do not ferment glucose (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), gram-positive cocci (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), and *Candida* (*Candida albicans* ATCC 885-653) [20].

The antimicrobial action of the alcoholic extract of rose petals against *E. coli* (ATCC 25922) and *S. aureus* (ATCC 25923) has been demonstrated [21, 22].

The state of war presents a complex and dangerous situation, requiring the search for new approaches to ensure public safety and health. As part of this research, we focused on the comparative assessment of the microbiological properties (microbiological purity, antimicrobial activity) of two essential oils from the genus *Rosa* L., one of which was produced from the raw material grown in the natural environment of Zaporizhzhia, while the other was obtained through water distillation of rose petals grown in *in vitro* culture via clonal micropropagation.

These oils can also be used to produce medicinal products and be applied in the treatment and prevention of diseases, particularly in conditions of limited resources and insufficient access to medical care. Through clonal micropropagation, it is possible to rapidly obtain a significant amount of the raw material base from the medicinal plant, which will enable the production of sufficient quantities of an essential oil in a short time.

Therefore, a comparative microbiological study of essential oils from representatives of the *Rosa* L. genus obtained using different methods is highly relevant in the context of the potential development of medicinal products based on them.

The **aim** of this work was to conduct a comparative microbiological study of the essential oils from *Rosa damascena* of the “Veselka” (“Rainbow”) variety grown via clonal micropropagation in *in vitro* culture and in the natural environment of Zaporizhzhia, to further substantiate their potential use in medical practice and develop new medicinal products based on them.

Materials and methods. The study was carried out as part of the research project No. 0120U102600 “The search and study of new sources of the medical plant raw material, and creation of substances and medicines based on them” of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany of Zaporizhzhia State Medical University.

The study objects were essential oils obtained by water distillation [2] from rose petals grown using the method of clonal micropropagation in *in vitro* culture (hereafter referred to as Sample 1) at the Educational and Scientific Medical Laboratory Center with a vivarium, and under natural conditions in Zaporizhzhia (hereafter referred to as Sample 2).

For the introduction into *in vitro* culture, stem parts with buds of the “Veselka” rose variety were used. Explants were introduced into *in vitro* culture from March to May, and they were cultivated on a modified Murashige and Skoog nutrient medium with the addition of 2.0 mg/L 6-benzylaminopurine (6-BAP), 0.2 mg/L indole-3-acetic acid (IAA), and 25.0 mg/L ascorbic acid at an air temperature of 22–24 °C, relative humidity of 65–70 %, and lighting of 2500–3000 lx with a photoperiod of 16 hours. The nutrient medium was sterilized in an autoclave under 0.11 MPa pressure for 25 minutes. The passage duration was 28–30 days. Explants, 0.8–1.2 cm in size with one node, were planted. The clonal micropropagation method for the *Rosa damascena* “Veselka” variety in *in vitro* conditions and its advantages were described in previous works [20].

The study of the antimicrobial activity was conducted at the Microbiological Laboratory of the Department of Microbiology, Virology, and Immunology at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. The study of the microbiological purity and antimicrobial activity of the rose essential oils (Sample 1 and Sample 2) was carried out *in vitro* in accordance with the existing standards of the 2nd edition of the State Pharmacopoeia of Ukraine and taking into account the existing requirements of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [23]. The microbiological purity (MP) was studied based on such indicators as the total viable aerobic microbial count (TAMC), the total viable yeast and mold count (TYMC), the presence/absence of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, and anaerobic microorganisms. The TAMC and TYMC were determined using the pour plate and double-layer methods. For the pour plate method, dilutions of samples 1:100 and 1:1000 were prepared, and 1 ml was placed into sterile Petri dishes, followed by the addition of 20 ml of molten and cooled (to 45 °C) soy-casein agar (to detect bacteria) or Sabouraud-dextrose agar (to detect yeasts and molds). In the double-layer

method, 1 ml of samples from 1:100 and 1:1000 dilutions were added to tubes containing 4 ml of molten and cooled (to 45 °C) soy-casein agar or Sabouraud-dextrose agar. The contents of each tube were quickly mixed and poured over the surface of the corresponding agar in Petri dishes. After the agar solidified, the plates were incubated at 35 °C for 5 days to detect bacteria and at 25 °C for 7 days to detect fungi. The presence/absence of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, and *E. coli* was determined by inoculating 0.1 ml from each dilution of the samples onto the dried surface of the respective nutrient media (egg-yolk salt agar for staphylococcus, Endo medium for *E. coli* and pseudomonads). The thioglycolate medium was used to detect anaerobes and facultative anaerobes, in which 0.1 ml from each sample dilution was inoculated into the medium. The cultures for the detection of staphylococci and anaerobic microorganisms were incubated at 36 °C for 48 hours, while the cultures for enterobacteria and pseudomonads were incubated for 24 hours.

The study of the antimicrobial activity of the oils was conducted using the disk diffusion method. Paper disks (6 mm in diameter) were soaked separately with the essential oil from Sample 1 and Sample 2. The tests used 24-hour cultures of reference test strains from different groups of microorganisms: *E. coli* ATCC 25922 (a gram-negative rod, representative of the Enterobacteriaceae family), *P. aeruginosa* ATCC 27853 (a gram-negative rod that does not ferment glucose), *S. aureus* ATCC 25923 (a gram-positive coccus), and *C. albicans* ATCC 885-653 (a yeast-like fungus from the Candida genus). A bacterial suspension with a density of 0.5 McFarland units (using a DEN 1B densitometer, SIA “Biosan”, Latvia) was prepared from each culture in physiological saline and evenly inoculated over the Mueller-Hinton agar surface using a sterile cotton swab. The surface of the nutrient medium was dried for 5 minutes, after which the soaked disks were placed on the agar, and the cultures were immediately transferred to an incubator. The cultures were incubated at 35±1 °C with *E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. aureus* for 18 hours, and with *C. albicans* for 48 hours. The sensitivity/resistance to the essential oils was determined by the presence/absence of the growth inhibition zones around the disk with the oil. The activity was assessed based on the diameter of the growth inhibition zones around the disk: 0–2 mm – no antimicrobial effect, 3–10 mm – weak antimicrobial effect, 10–20 mm – moderate antimicrobial effect, more than 21 mm – high antimicrobial effect. The experiments were conducted in triplicate. The HiMedia (India) nutrient media were used in the study.

Results and discussion. Testing of the microbiological purity of both essential oil samples showed no microbial growth on the surface or within the nutrient media, indicating the absence of any bacteria (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, and anaerobic microorganisms), as well as yeasts and molds in the samples studied.

The results of the comparative study of the antimicrobial activity demonstrated that the oils tested exhibited the antibacterial and antifungal activity although the

Table

The study of the antimicrobial activity of essential oils

The sample name	The name of the test strain	The diameter of the growth retardation zone, mm			The average value, mm
		Study 1	Study 2	Study 3	
Sample 1	<i>E. coli</i>	21	23	20	21,7
	<i>S. aureus</i>	11	11	12	11,3
	<i>P. aeruginosa</i>	13	14	15	14
	<i>C. albicans</i>	35	32	33	33,3
Sample 2	<i>E. coli</i>	11	12	13	12
	<i>S. aureus</i>	9,5	10	11	10,2
	<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0
	<i>C. albicans</i>	50	35	35	40

level and spectrum of this activity varied in different experiments. For example, the analysis of the mean diameters of the growth inhibition zones showed that the essential oil of rose (Sample 1) more effectively inhibited the growth of *E. coli* compared to the essential oil from Sample 2 (21.3 mm vs. 12.0 mm, respectively). In experiments with *S. aureus*, both samples exhibited nearly identical bactericidal activity: the mean diameter of the growth inhibition zones in experiments with Sample 1 was 11.3 mm, and with Sample 2, it was 10.2 mm. It was also found that the second sample of the essential oil, unlike the first one obtained by clonal micropropagation, did not inhibit the growth of *P. aeruginosa* (the diameters of the growth inhibition zones were 0 mm and 14 mm, respectively). In the studies with *C. albicans*, the results indicated a high antifungal activity for both essential oils although the mean diameter of the growth inhibition zone in experiments with the first sample of damask rose oil (Sample 1) was less – 33.3 mm compared to 40 mm in experiments with Sample 2 of the essential oil.

According to the results of the study of essential oils obtained from petals of *Rosa damascena* “Veselka” variety (Sample 1 and Sample 2), *Rosa damascena* (Sample 1) can be recommended for further research as a promising plant with the antimicrobial activity.

The analysis of scientific literature shows that recent studies have focused on investigating the antimicrobial and wound-healing properties of plants, particularly *Rosa damascena*, and their potential in treating bacterial infections and accelerating wound healing.

For example, researchers from Ghana have actively studied the antimicrobial activity of essential oils and extracts from several plants cultivated in that country, including *Rosa damascena* [24].

The literature provides data on the antimicrobial properties of an ethanol extract from rose petals against food-borne bacteria [25].

A randomized controlled study demonstrated the effectiveness of the *Rosa damascena* extract in accelerating wound healing [26].

The studies using rat models have shown that the essential oil and extracts of *Rosa damascena* have wound-healing and rapid skin recovery properties, confirming their potential utility in clinical practice [27-30].

Similar results were obtained in experiments on wound treatment using the aqueous extract of *Rosa damascena* in rats [31].

These studies highlight the potential efficacy of rose extracts and oils in combating pathogens of purulent-inflammatory wound infections, which could be significant for the development of new treatments and methods of care.

The results of our study have revealed that the essential oils of *Rosa damascena* “Veselka” variety obtained through clonal micropropagation from the raw material cultivated in natural conditions in Zaporizhzhia possess antimicrobial properties. Both samples have demonstrated a high antifungal activity, which justifies their potential use in treating wounds in patients with candidal infections. Additionally, the samples showed a moderate antistaphylococcal activity. Furthermore, the essential oil obtained through clonal micropropagation exhibited a high antibacterial activity against *Escherichia coli* and a moderate activity against *Pseudomonas aeruginosa*. In contrast, the essential oil obtained from the raw material grown in natural conditions showed a moderate activity against *E. coli*, but lacked bactericidal effects against *P. aeruginosa*. Therefore, we can confidently conclude that the essential oil of *Rosa damascena* obtained through clonal micropropagation possesses a broader spectrum of the antimicrobial activity than the oil from the raw material naturally cultivated. The high content of citronellol, geraniol, as well as the presence of nerol and eugenol [20], contribute to the antimicrobial activity of the essential oil from rose petals grown through clonal micropropagation *in vitro* (Sample 1), particularly against *P. aeruginosa*.

The results of the microbiological purity studies of both samples showed that the essential oils of *Rosa damascena* “Veselka” variety obtained through clonal micropropagation and from the raw material grown in natural conditions in Zaporizhzhia fully complied with the existing standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine, 2nd edition.

The results of the study indicate the potential of using the essential oil of *Rosa damascena* “Veselka” variety grown through clonal micropropagation *in vitro* in medicine and pharmacy for developing new drugs against various infectious diseases, particularly for treating purulent-inflammatory wound infections.

Conclusions

1. The essential oil obtained by water distillation of petals from the *Rosa damascena* “Veselka” variety grown through clonal micropropagation *in vitro* exhibits a high antimicrobial activity against *E. coli* and *C. albicans*, and a moderate activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

2. The essential oil of *Rosa damascena* from the raw material grown in the natural environment in Zaporizhzhia shows a high antimicrobial activity against *C. albicans*, while a moderate activity against *E. coli* and *S. aureus*. *P. aeruginosa* has been found to be completely resistant to the action of this oil.

3. *Rosa damascena* Mill. “Veselka” variety grown *in vitro* is a promising source of essential oil with the

antimicrobial activity, it is suitable for creating new herbal formulations.

The prospects for further research. The results of this study can serve as a scientific basis for developing medicinal formulations based on the essential oil of *Rosa damascena* Mill. “Veselka” variety grown through clonal micropropagation *in vitro*.

Funding. The research was conducted within the framework of comprehensive work by the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Conflict of interests: authors have no conflict of interests to declare.

REFERENCES

1. Effect of hydro-alcoholic extract of *Rosa damascena* on cardiovascular responses in normotensive rat / A. Baniasad et al. *Avicenna J. Phytomed.* 2015. Vol. 5, № 4. P. 319-324.
2. Державна фармакопея України : у 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-ге вид. Харків : ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2014. Т. 2. 724 с.
3. Phytochemical, Physiochemical, Macroscopic, and Microscopic Analysis of *Rosa damascena* Flower Petals and Buds / Z. H. Abudayeh et al. *Journal of Food Quality.* 2022. Vol. 2022. DOI: 10.1155/2022/5079964.
4. Abdel-Hameed E. S. S., Bazaid S. A., Hagag H. A. Chemical characterization of *Rosa damascena* Miller var. *trigintipetala* Dieck essential oil and its *in vitro* genotoxic and cytotoxic properties. *JEOR.* 2016. Vol. 28, № 2. P. 121-129. DOI: 10.1080/10412905.2015.1099120.
5. Shohayeb M., Abdel-Hameed E. S. S., Bazaid S. A., Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Global Journal of Pharmacology.* 2014. Vol. 8, № 1. P. 1-7. DOI: 10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81275.
6. Özkan G., Sağdıç O., Baydar N. G., Baydar H. Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Sci Technol Int.* 2004. Vol. 10, № 4. P. 277-281. DOI: 10.1177/1082013204045882.
7. Preventive Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosa damascena* on Cardiovascular Parameters in Acute Hypertensive Rats Induced by Angiotensin II / M. Rahimi et al. *Int. J. Prev. Med.* 2018. Vol. 9. P. 92. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_312_17.
8. The effect of aqueous extract of *Rosa damascena* on formaldehyde-induced toxicity in mice testes / M. Askaripour et al. *Pharmaceutical biology.* 2018. Vol. 56, № 1. P. 12-17. DOI: 10.1080/13880209.2017.1413663.
9. Chemical constituents and pharmacological activities of medicinal plants from *Rosa* genus / Y. Wang et al. *Chinese herbal medicines.* 2022. Vol. 14, № 2. P. 187-209. DOI: 10.1016/j.chmed.2022.01.005.
10. Phytochemical investigation of flowers of *Rosa damascena* Mill / M. Ali et al. *Int. J. Herb. Med.* 2016. Vol. 4, № 6. P. 179-183.
11. Seify Z., Yadegari M., Pirbalouti A. G. Essential oil composition of *Rosa damascena* mill. produced with different storage temperatures and durations. *Horticultural Science and Technology.* 2018. Vol. 36, № 4. P. 552-559. DOI: 10.12972/kjhst.20180055.
12. Prerna, Prince S., Sanjana C., Dr. Jyoti Tyag. A review on antimicrobial and antioxidant activity of *Rosa damascene* against different species of microbes. *IJARIE.* 2021. Vol. 7, № 3. P. 3555-3568.
13. Antidiarrhoeal and antimicrobial activities of the methanolic extract of the flowering tops of *Rosa damascene* / M. A. Nyeem et al. *International Journal of Current Research.* 2016. Vol. 8, № 5. P. 30547-30551.
14. Wagih A. E., Sameh S. A., Alsayed M. A. In vitro Antibacterial Potential of *Rosa damascena* and *Terminalia chebula* against Bacterial Peritonitis. *GJBAS.* 2016. Vol. 5, № 2. P. 40-49.
15. Tatke P., Satyapal U. S., Mahajan D. C., Naharwar V. Phytochemical analysis, In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of flower petals of *Rosa damascena*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.* 2015. Vol. 7, № 2. P. 246-250.
16. Nayebi N., Khalili N., Kamalinejad M., Emtiazy M. A systematic review of the efficacy and safety of *Rosa damascena* Mill. with an overview on its phytopharmacological properties. *Complement Ther. Med.* 2017. Vol. 34. P. 129-140. DOI: 10.1016/j.ctim.2017.08.014.
17. Tyrosinase inhibitory constituents from a polyphenol enriched fraction of rose oil distillation wastewater / J. Solimine et al. *Fitoterapia.* 2016. Vol. 108. P. 13-19. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.11.012.
18. Antilisterial Effect of *Rosa damascena* and *Nymphaea alba* in *Mus musculus* / R. Batool et al. *Biomed. Res. Int.* 2018. Vol. 2018. P. 4543723. DOI: 10.1155/2018/4543723.
19. Determination of caftaric acid in tincture and rose water obtained from *Rosae damascenae* flores / A. Popescu et al. *Ovidius University Annals of Chemistry.* 2015. Vol. 26, № 1. P. 12-19. DOI: 10.1515/auoc-2015-0003.
20. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosa Damascena* mill. (variety rainbow) from clonal micropropagation / V. Odyntsova et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2023. № 4. P. 89-96. DOI: 10.15587/2519-4852.2023.286746.
21. Kheirkhahan P., Ghavami M., Sharifan A. Chemical Composition, Antioxidant Activity and Antimicrobial Effect of *Rosa damascena* Mill. Essential Oil Against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *J. Food Biosci. Technol.* 2020. Vol. 10, № 2. P. 63-74.
22. Variability in chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosa × damascena* Herrm. from mountainous regions of Iran / M. Ghavam et al. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2021. Vol. 8, № 1. DOI: 10.1186/s40538-021-00219-6.
23. Державна фармакопея України : у 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-ге вид. Харків : ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2015. Т. 1. 1128 с.

REFERENCES

1. Baniasad, A., Khajavirad, A., Hosseini, M., Shafei, M. N., Aminzadah, Ghavi, M. (2015). Effect of hydro-alcoholic extract of *Rosa damascena* on cardiovascular responses in normotensive rat. *Avicenna J. Phytomed*, 5(4), 319-324.
2. Derzhavna farmakopeia Ukrainy : u 3 t. T. 2. (2014) / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». Kharkiv.
3. Abudayeh, Z. H., Karpiuk, U., Armoon, N., Abualassal, Q., Mallah, E., Hassouneh, L. K. et al. (2022). Phytochemical, Physiochemical, Macroscopic, and Microscopic Analysis of *Rosa damascena* Flower Petals and Buds. *Journal of Food Quality*, 2022. doi: 10.1155/2022/5079964.
4. Abdel-Hameed, E. S. S., Bazaid, S. A., Hagag, H. A. (2016). Chemical characterization of *Rosa damascena* Miller var. *trigintipetala* Dieck essential oil and its in vitro genotoxic and cytotoxic properties. *JEOR*, 28(2), 121-129. doi: 10.1080/10412905.2015.1099120.
5. Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E. S. S., Bazaid, S. A., Maghrabi, I. (2014). Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. *Glob. J. Pharmacol*, 8(1), 1-7. doi: 10.5829/idosi.gjp.2014.8.1.81275.
6. Özkan, G., Sağdıç, O., Baydar, N.G., Baydar, H. (2004). Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food Sci Technol Int*, 10(4), 277-281. doi: 10.1177/1082013204045882.
7. Rahimi, M., Ghoreishi, M., Emami, B., Shafei, M. N., Hosseini, M., Khajavirad, A. (2018). Preventive Effect of Hydroalcoholic Extract of *Rosa damascena* on Cardiovascular Parameters in Acute Hypertensive Rats Induced by Angiotensin II. *Int J Prev Med*, 9, 92. doi: 10.4103/ijpvm.IJPVM_312_17.
8. Askaripour, M., Hasanpour, A., Hosseini, F., Moshrefi, M., Moshtaghi, G., Hasannejad, M. et al. (2018). The effect of aqueous extract of *Rosa damascena* on formaldehyde-induced toxicity in mice testes. *Pharm Biol*, 56(1), 12-7. doi: 10.1080/13880209.2017.1413663.
9. Wang, Y., Zhao, Y., Liu, X., Li, J., Zhang, J., Liu, D. (2022). Chemical constituents and pharmacological activities of medicinal plants from *Rosa* genus. *Chin Herb Med*, 14(2), 187-209. doi: 10.1016/j.chmed.2022.01.005.
10. Ali, M., Sultana, S., Jameel, M., Mohammed Ali, C., Jameel, M. (2016). Phytochemical investigation of flowers of *Rosa damascena* Mill. *Int. J. Herb. Med.*, 4(6), 179-183.
11. Seify, Z., Yadegari, M., Pirbalouti, A. G. (2018). Essential oil composition of *Rosa damascena* mill. produced with different storage temperatures and durations. *Horticultural Science and Technology*, 36(4), P. 552-559. doi: 10.12972/kjhst.20180055.
12. Perna, Prince, S., Sanjana, C., Dr. Jyoti Tyag. (2021). A review on antimicrobial and antioxidant activity of *Rosa damascene* against different species of microbes. *IJARIE*, 7(3), 3555-3568.
13. Nyeem, M. A., Islam, M. N., Alam, M. K., Billah, M. M., Islamv, B., Mostofa, M. (2016). Antidiarrhoeal and antimicrobial activities of the methanolic extract of the flowering tops of *Rosa damascene* *International Journal of Current Research*, 8(5), 30547-51.
14. Wagih, A. E., Sameh, S. A., Alsayed, M. A. (2016). In vitro Antibacterial Potential of *Rosa damascena* and *Terminalia chebula* against Bacterial Peritonitis. *GJBAHS*, 5(2), 40-9.
15. Tatke, P., Satyapal, U. S., Mahajan, D. C., Naharwar, V. (2015). Phytochemical analysis, In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of flower petals of *Rosa damascena*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 7(2), 246-250.
16. Nayeibi, N., Khalili, N., Kamalinejad, M., Emtiazy, M. (2017). A systematic review of the efficacy and safety of *Rosa damascena* Mill. with an overview on its phytopharmacological properties. *Complement Ther. Med.*, 34, 129-140. doi: 10.1016/j.ctim.2017.08.014.
17. Solimine, J., Garo, E., Wedler, J., Rusanov, K., Fertig, O., Hamburger, M. et al. (2016). Tyrosinase inhibitory constituents from a polyphenol enriched fraction of rose oil distillation wastewater. *Fitoterapia*, 108, 13-19. doi: 10.1016/j.fitote.2015.11.012.
18. Batool, R., Kalsoom, A., Akbar, I., Arshad, N., Jamil N. (2018). Antilisterial Effect of *Rosa damascena* and *Nymphaea alba* in *Mus musculus*. *Biomed Res Int.*, 2018, 4543723. doi: 10.1155/2018/4543723.
19. Popescu, A., Matei, N., Roncea, F., Miresan, H., Pavalache, G. (2015). Determination of caftaric acid in tincture and rose water obtained from *Rosae damascenae* flores. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 26(1), 12-19. doi: 10.1515/auoc-2015-0003.
20. Odyntsova, V., Denysenko, O., Shkopinska, T., Mozul, V., Polishchuk, N., Aksonova, I. et al. (2023). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosa Damascena* mill. (variety rainbow) from clonal micropropagation. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 4(44), 89-96. doi: 10.15587/2519-4852.2023.286746.
21. Kheirkhahan P., Ghavami M., Sharifan A. (2020). Chemical Composition, Antioxidant Activity and Antimicrobial Effect of *Rosa damascena* Mill. Essential Oil Against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *J. Food Biosci. Technol.*, 10(2), 63-74.
22. Ghavam, M., Afzali, A., Manconi, M., Bacchetta, G., Manca, M. L. (2021). Variability in chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosa × damascena* Herrm. from mountainous regions of Iran. *Chem Biol Technol Agric.*, 8(1). doi: 10.1186/s40538-021-00219-6.
23. Derzhavna farmakopeia Ukrainy : v 3 t. T. 1. (2015) / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2-he vyd. Kharkiv : DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr».

Information about authors:

Odyntsova V. M., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. E-mail: odyntsova1505@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7883-8917>

Polishchuk N. M., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of microbiology, virology and immunology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. E-mail: natalyapolishchuck23@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9791-5818>

Denysenko O. M., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. E-mail: deolgaviola@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0448-4677>

Mozul V. I., Candidate of Medicine (PhD), associate professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. E-mail: valentina.mozul@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8042>

Holovkin V. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. E-mail: vvgolovkin@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7787-0969>

Zhyvora N. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Drug Technology Department, National University of Pharmacy. E-mail: n.v.zhyvora@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9491-5313>

Rudko Ye. V. PhD, teaching assistant of the Drug Technology Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: zujkina.lizaveta@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9059-4700>

Відомості про авторів:

Одинцова В. М., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. E-mail: odyntsova1505@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7883-8917>

Поліщук Н. М., кандидат медичних наук, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. E-mail: natalyapolishchuck23@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9791-5818>

Денисенко О. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. E-mail: deolgaviola@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0448-4677>

Мозуль В. І., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. E-mail: valentina.mozul@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8042>

Головкін В. В., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет. E-mail: vvgolovkin@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7787-0969>

Живора Н. В., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: n.v.zhyvora@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9491-5313>

Рудько С. В., доктор філософії, асистентка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: zujkina.lizaveta@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9059-4700>

Надійшла до редакції 13.06.2024 р.

Т. Р. Кононенко, В. В. Чікіткіна

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Вплив нового засобу на основі кверцетину та екстракту моркви посівної коренеплодів густого на гістологічний стан серцевого м'яза щурів за адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда

Мета – вивчити вплив таблеток з екстрактом моркви посівної коренеплодів густим та кверцетином на гістологічний стан серцевого м'яза щурів за експериментального адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда.

Матеріали та методи. На моделі гострого адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда, викликаного підшкірним введенням 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду в дозі 1 мг/кг та 2,5 % емульсії гідрокортизону ацетату в дозі 12,5 мг/кг маси тварини двічі на добу протягом тижня, вивчали кардіопротекторну дію таблеток з моркви посівної коренеплодів екстрактом густим та кверцетином. Досліджували таблетки в дозі 200 мг/кг та препарати порівняння – таблетки «Тіотриазолін» та таблетки «Кратал» вводили протягом 14 днів – 7 днів до моделювання інфаркту та 7 днів розвитку інфаркту міокарда, після чого досліджували вплив препаратів на гістологічний стан серцевого м'яза щурів.

Результати та їх обговорення. Моделювання адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда в щурів супроводжується виникненням вогнищевих некротичних змін м'язових клітин, які в деяких випадках мають початкові регенераторні прояви у вигляді формування гранульом; дистрофічні процеси кардіоміоцитів. Лікувально-профілактичне введення таблеток з моркви посівної коренеплодів екстрактом густим та кверцетином на моделі адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда чинить кардіопротекторну дію, знижуючи виразність некротичних і дистрофічних змін серцевого м'яза.

Висновки. Унаслідок моделювання адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда в щурів спостерігали вогнищеві некротичні зміни м'язових клітин, що подекуди супроводжувалися початковим формуванням матриксу, який складався з молодих фіброblastів; дистрофічними процесами кардіоміоцитів, зокрема міоцитолізом, коливанням розміру ядер. Лікувально-профілактичне введення досліджуваних таблеток на моделі адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда чинить кардіопротективну дію, знижує виразність некротичних і дистрофічних змін серцевого м'яза. За виразністю кардіопротективної дії таблетки з екстрактом моркви посівної коренеплодів густим та кверцетином на моделі адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда не поступаються препаратам порівняння – таблеткам «Тіотриазолін» і «Кратал». Результати експериментально обґрунтовують доцільність створення нового комбінованого лікарського засобу з моркви посівної коренеплодів екстракту густого та кверцетину для профілактики і фармакокорекції серцево-судинної патології.

Ключові слова: кверцетин; екстракт моркви посівної коренеплодів густий; експериментальний адреналінгідрокортизоновий інфаркт міокарда; кардіопротекторна дія

T. R. Kononenko, V. V. Chikitkina

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The effect of a new product based on quercetin and a thick extract of carrot seed root on the histological state of the rat cardiac muscle in the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction

Aim. To study the effect of tablets with a thick extract of carrot seed root and quercetin on the histological state of the rat cardiac muscle in the experimental adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction.

Materials and methods. The cardioprotective effect of tablets with a thick extract of carrot seed root and quercetin was studied on the model of acute adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction caused by subcutaneous administration of 0.1 % adrenaline hydrochloride solution in the dose of 1 mg/kg and 2.5 % hydrocortisone acetate emulsion in the dose of 12.5 mg/kg of the animal weight twice daily for a week. The tablets under research in the dose of 200 mg/kg and the reference drugs – "Thiotriazolin" and "Cratal" tablets were administered for 14 days – 7 days before the infarction modeling and 7 days of the myocardial infarction development, after which their effect on the histological state of the rat heart muscle was studied.

Results. Modeling of the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction in rats is accompanied by the appearance of focal necrotic changes in muscle cells, which in some cases are accompanied by initial regenerative manifestations in the form of granuloma formation; dystrophic processes of cardiomyocytes. The therapeutic and prophylactic administration of tablets from a thick extract of carrot seed root and quercetin on the model of the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction has the cardioprotective effect, reducing the severity of necrotic and dystrophic changes in the cardiac muscle.

Conclusions. As a result of modeling of the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction in rats, focal necrotic changes in muscle cells were observed, sometimes accompanied by the initial formation of a matrix consisting of young fibroblasts; dystrophic processes of cardiomyocytes, in particular myocytolysis, fluctuations in the size of

nuclei. The therapeutic and preventive administration of the tablets studied on the model of the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction has the cardioprotective effect, reduces the severity of necrotic and dystrophic changes in the cardiac muscle. By the cardioprotective effect expressiveness, tablets with a thick extract of carrot seed root and quercetin on the model of the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction are not inferior to the reference drugs – “Thiotriazolin” and “Cratal” tablets. The results experimentally substantiate the feasibility of creating a new combined drug from a thick extract of carrot seed root and quercetin for the prevention and pharmacocorrection of a cardiovascular pathology.

Keywords: *quercetin; thick carrot seed extract; experimental adrenaline-hydrocortisone myocardial infarction; cardioprotective effect*

Вступ. Серцево-судинні захворювання (ССЗ), переважно ішемічна хвороба серця (ІХС) та інсульт, є основними причинами смертності й одним з основних факторів інвалідності в усьому світі [1, 2]. Такі висновки отримано з дослідження Глобального тягаря хвороб (GBD – Global Burden of Disease) за 2019 рік [3, 4].

Серцево-судинні захворювання продовжують зростати протягом десятиліть майже у всіх країнах із середнім і низьким рівнем доходу. Викликає тривогу й той факт, що стандартизований за віком показник ССЗ почав рости в деяких країнах із високим рівнем доходу, де раніше він знижувався [5].

Виявлення випадків серцево-судинних захворювань майже подвоїлося з 271 млн у 1990 р. до 523 млн у 2019 р., а кількість смертей від ССЗ неухильно збільшувалася з 12,1 млн у 1990 р. до 18,6 млн у 2019 р. [6].

Провідне місце серед причин ССЗ посідає атеросклероз, який є мультифакторіальним і зумовлює розвиток та клінічні прояви ІХС, цереброваскулярних захворювань, хвороб судин нижніх кінцівок. Експериментальні, епідеміологічні та клінічні дослідження, проведені за останні 50 років, виявили тісний зв'язок між порушенням ліпідного спектра (дисліпідеміями) та розвитком атеросклерозу [7].

Нині використовують кілька класів гіполіпідемічних лікарських препаратів із доведеною ефективністю. Однак частина пацієнтів має непереносність певних препаратів із високою ефективністю або не вдається досягти цільових рівнів показників ліпідного спектра крові навіть у разі застосування максимальних доз чи комбінованої терапії. Це зумовлює необхідність створення нових гіполіпідемічних засобів, серед яких особливе значення мають препарати рослинного походження, що вирізняються низькою токсичністю, можливістю тривалого застосування без ускладнень і здатністю комплексно впливати на організм [8].

У цьому аспекті в Національному фармацевтичному університеті (НФаУ) розроблено новий комбінований засіб на основі екстракту моркви посівної (*Daucus carota subsp. sativus* L.) коренеплодів густого (ЕМПКГ) та природного флавоноїду кверцетину.

Підґрунтям вибору ЕМПКГ стала наявність біологічно активних речовин: фенольних сполук, флавоноїдів, каротиноїдів α - і β -каротину, лютеїну, зеаксантину, антоціанів, рибофлавіну, тіаміну, аскорбінової кислоти, ніацину й токоферолу тощо, які зумовлюють широкий спектр його фармакологічної дії [9, 10].

Але сьогодні на фармацевтичному ринку України представлені лише препарати для фармакотерапії захворювань сечовидільної системи, печінки та жовчовивідних шляхів («Уролесан», «Урохолум», «Холелесан»), до складу яких входять рідкі екстракти з плодів моркви дикої.

Кверцетин виявляє виражені антиоксидантні, протизапальні, протиульцерогенні, кардіо-, нефро-, радіопротекторні властивості, а його капіляростабілізувальна дія є основною в ін'єкційній лікарській формі кверцетину «Корвітин®», який застосовують у комплексній терапії гострого порушення коронарного та мозкового кровообігу й інфаркту міокарда [11].

Проте створення препаратів на основі кверцетину, який погано розчиняється в кислих та основних середовищах, в етанолі та воді очищених, слабо абсорбується в шлунково-кишковому тракті, досить обмежене, що спонукає розробляти нові лікарські форми на основі кверцетину з підвищеною розчинністю та біодоступністю.

З огляду на зазначене на кафедрі заводської технології ліків НФаУ за допомогою нового технологічного підходу було отримано зразки твердих дисперсій кверцетину на основі маніту з мікрокристалічною целюлозою і колідону-30 з мікрокристалічною целюлозою, які й уведено до складу комбінованих таблеток разом з ЕМПКГ. У раніше проведених експериментальних дослідженнях доведено посилення біодоступності кверцетину у вигляді твердої дисперсії на основі колідону-30 з мікрокристалічною целюлозою у співвідношенні 1:1, що в комплексі з фітоекстрактом проявилось вираженими гіполіпідемічними властивостями [12]. За гіпотригліцеридемічною та гіпохолестеринемічною дією комбінований засіб у дозі 200 мг/кг не поступався відомим гіполіпідемічним препаратам – таблеткам нікотинової кислоти, настойці «Равісол» і таблеткам «Вазостат-Здоров'я». Крім того, зазначений засіб проявив антиатерогенну дію на моделі холестеринового атеросклерозу в кролів (неопубліковані дані).

Варто зауважити, що всім пацієнтам із діагнозом ІХС з метою профілактики стенокардії та інфаркту міокарда призначають гіполіпідемічні препарати, які поліпшують функцію ендотелію та непрямо протидіють виникненню ішемії за рахунок дилатації периферичних і коронарних судин [13]. З огляду на вищенаведене, багатий хімічний склад ЕМПКГ та відомі кардіопротекторні властивості кверцетину [14] доцільним було дослідити можливий позитивний

вплив комбінованого засобу на морфоструктуру міокарда за його ішемічного ураження.

Мета роботи – вивчити вплив таблеток з моркви посівної коренеплодів екстрактом густим та кверцетином на гістологічний стан серцевого м'яза щурів за експериментального адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на білих нелінійних щурах-самцях масою 220-240 г, отриманих із віварію Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ, згідно з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, використовуваних з експериментальними та іншими науковими цілями (Страсбург, 1986 р. зі змінами, внесеними 1998 року), Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes та Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р.

Гострий адреналінгідрокортизоновий інфаркт міокарда моделювали підшкірним введенням 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду дозою із розрахунку 1 мг на 1 кг маси тварини та 2,5 % емульсії гідрокортизону ацетату із розрахунку 12,5 мг на 1 кг маси тварини двічі на добу протягом тижня [15].

Як препарати порівняння використовували ті, що їх застосовують у комплексній терапії ІХС і що проявляють кардіопротекторні властивості, а саме: таблетки «Тіотриазолін» – чинять протиішемічну, мембраностабілізуювальну, антиоксидантну та імуномодулювальну дію – у дозі 50 мг/кг (серія 0074033, виробництва ПАТ «Київмедпрепарат», м. Київ, Україна); таблетки «Кратал» рослинного походження – чинять кардіотонічну, антиангінальну, антиоксидантну, антигіпоксичну, антиагрегантну та антиатерогенну дію – у дозі 200 мг/кг (серія 0111123, виробництва ПАТ «Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод»», м. Київ, Україна). Дози препаратів порівняння розраховували, беручи до уваги коефіцієнти видової чутливості людини та щурів.

Тварин розподілили на групи: 1 група – інтактний контроль (ІК) – щури, яким внутрішньоочеревинно вводили ізотонічний розчин натрію хлориду; 2 – контрольна патологія (КП); 3 – тварини, яким у профілактично-лікувальному режимі вводили таблетки з ЕМПКГ та кверцетином, 200 мг/кг; 4 – тварини, яким вводили препарат порівняння таблетки «Тіотриазолін», 50 мг/кг; 5 – тварини, яким вводили препарат порівняння таблетки «Кратал», 200 мг/кг.

Досліджувані препарати вводили протягом 14 днів – 7 днів до моделювання інфаркту та 7 днів після введення адреналіну гідрохлориду й гідрокортизону ацетату. Евтаназію тварин і відбір зразків для світлооптичного дослідження проводили через 7 діб розвитку

інфаркту. Фіксування сердець щурів здійснювали після повної зупинки скорочення органа у 10 % розчині формаліну. Поперекову пластинку з серця тварин вирізали через весь орган на рівні середини обох шлуночків. Зразки зневоднювали у спиртах, занурювали у парафін. Мікротомовані зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [16-18].

Мікропрепарати серцевого м'яза досліджували за допомогою світлового мікроскопа Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Levenhuk 310 Tour View.

Результати та їх обговорення. В інтактних щурів на поздовжніх зрізах виявили доволі щільне розташування м'язових волокон, які мають вигляд єдиного масиву жмутів і орієнтовані в різних напрямках – поздовжньо чи циркулярно. Розміри інтерстиціальних просторів між волокнами не значні. Вміст у них сполучнотканинних клітин не великий. Серцеві м'язові волокна звичайні за товщиною, рівномірно профарбовані. Кардіоміоцити у волокнах розташовані послідовно один за одним. Ядра кардіоміоцитів витягнутої або овальної форми, звичайні за розміром та локалізацією. Ядра нормохромні, з чіткою хроматиною субстанцією, ядерцем. Досить чітко видно поперечне покреслення міофібрил. Повнокровність міокарда звичайна, перивазальна тканина не змінена (рис. 1).

За даними літератури, експериментальне моделювання інфаркту міокарда в щурів морфологічно характеризується дегенерацією і дезорганізацією волокон міокарда з поділом міофібрил, у деяких випадках – некрозом, пікнотичними ядрами, цитоплазматичною вакуолізацією волокон серцевого м'яза, набряком, інфільтрацією запальних клітин і крововиливом [19, 20].

У нашому дослідженні у тварин, яким моделювали адреналінгідрокортизоновий інфаркт, у середніх жмутках та сосочкових м'язах лівого шлуночка виявлено дрібні зони без'ядерної, безструктурної тканини з невеликою смужкою деморкаційного запалення; ділянки, на яких на місці лізованих залишків

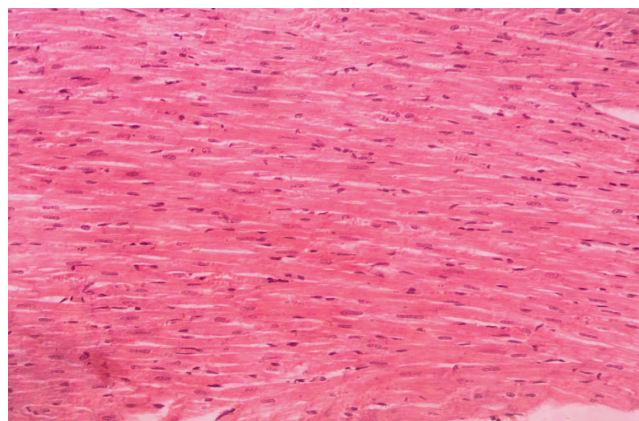


Рис. 1. Міокард інтактного щура. Нормальний стан серцево-м'язових волокон. Гематоксилін-еозин, x200

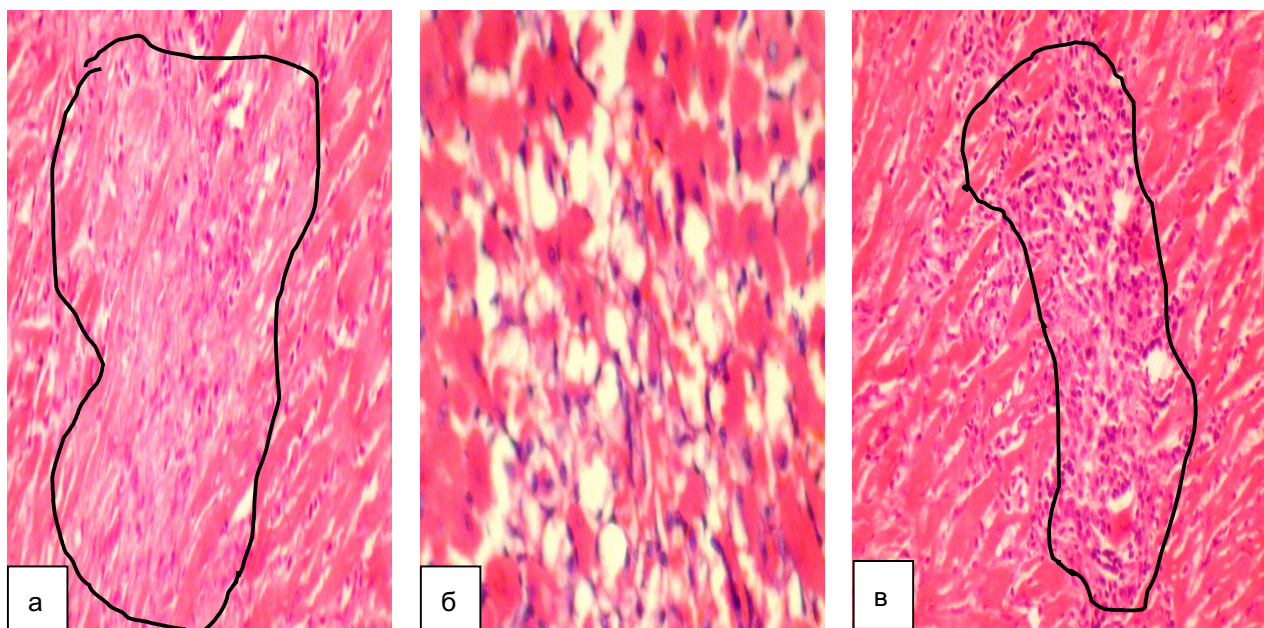


Рис. 2. Міокард щура з адреналінгидрокортизоновим інфарктом: а) – зона без'ядерної, безструктурної тканини (овал, $\times 200$); б) – незначна інфільтрація зони некрозу макрофагами, клітинами лімфоїдногістіоцитарного ряду; залишки дегенеративно змінених ядер кардіоміоцитів ($\times 250$); в) – гранульома на місці загиблених кардіоміоцитів (овал, $\times 200$). Гематоксилін-еозин

фрагментів волокон видно невеликі скупчення клітин лімфоїдно-гістіоцитарного ряду, поодинокі макрофагальні клітини, набряклі клітини з великим світлим ядром, дегенеративно змінені ядра кардіоміоцитів; ділянки некрозу, де формувалися гранульоми (лімфо-гістіоцитарні клітини з домішкою молодих фіброblastів), що заміщують загиблі кардіоміоцити (рис. 2).

Поза зон деструкцій виявлено помітне коливання розміру ядер кардіоміоцитів, зменшення їхньої кількості, пікнотичні ядра. Волокна доволі часто набряклі. У межах окремих м'язових клітин чи ряду м'язових клітин, розташованих паралельно, спостерігали літичні зміни – міоцитоліз: забарвлення ядер кардіоміоцитів

виразно послаблене, міофібрили набряклі, просвітлені, поперечного покреслення не визначено, забарвлення еозином значно слабше. Строма міокарда вогнищево інфільтрована макрофагами і лімфоцитами (рис. 3).

Отже, наявність зони без'ядерної, безструктурної тканини та лейкоцитарно-макрофагальної інфільтрації в досліджуваній тканині міокарда нелікованих щурів свідчить про гостре пошкодження кардіоміоцитів, що збігається з даними літератури [21, 22].

Лікувально-профілактичне введення таблеток з ЕМПКГ та кверцетином зменшувало ознаки пошкодження міокарда щурів. Відсутні були зони без'ядерної, безструктурної тканини. Виразніше і скоріше

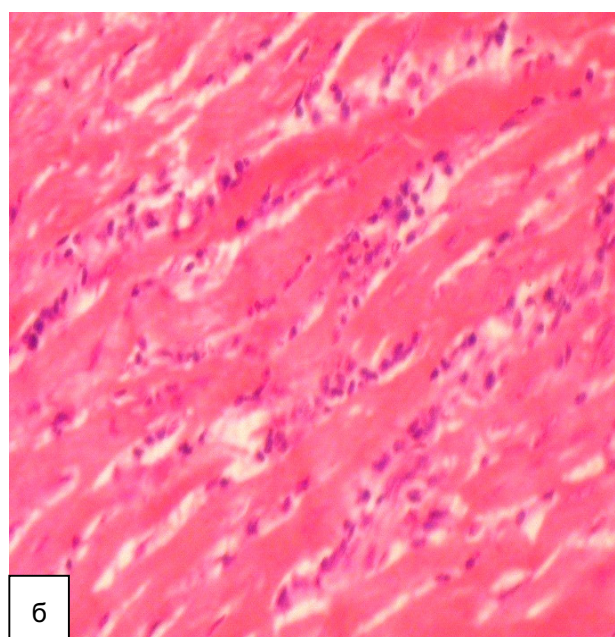
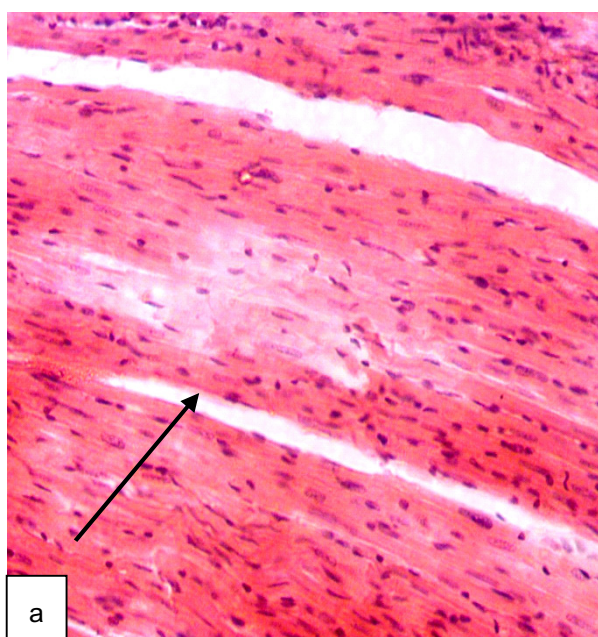


Рис. 3. Міокард з адреналінгидрокортизоновим інфарктом: а) – осередок міоцитолізу ($\times 200$); б) – вогнищева клітинна інфільтрація стромы ($\times 250$). Гематоксилін-еозин

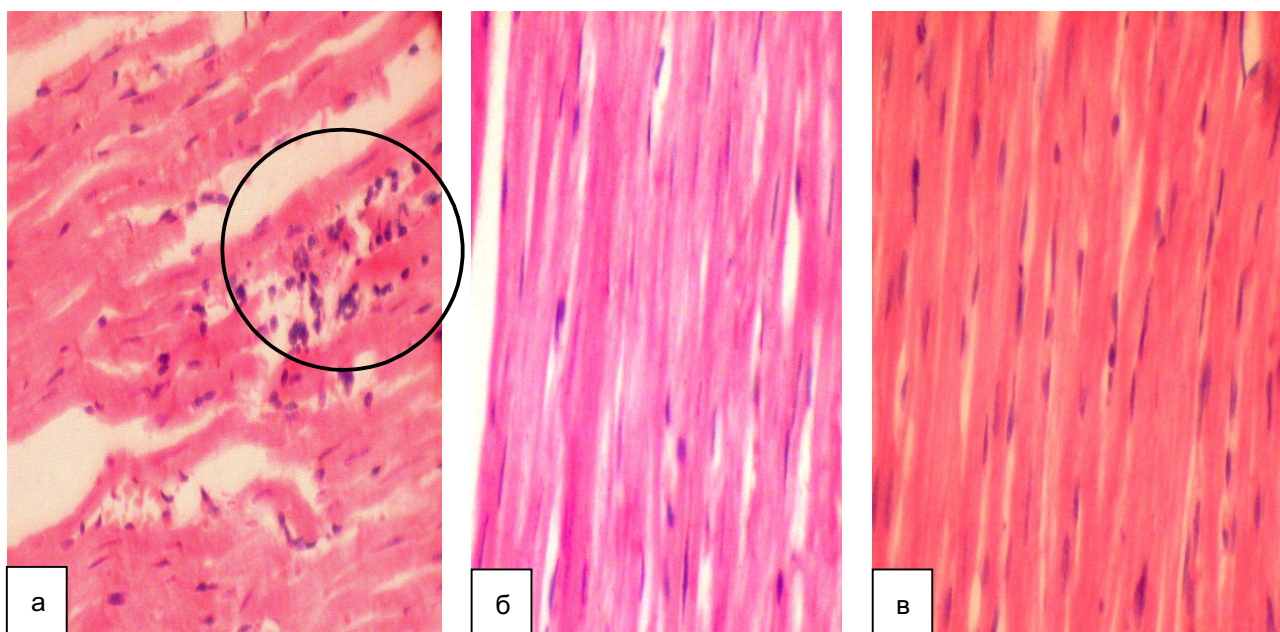


Рис. 4. Міокард щура з адреналінгидрокортизоновим інфарктом після лікувально-профілактичного введення таблеток з ЕМПКГ та кверцетином: а) – дрібна гранульома з клітин фібробластичного ряду на місці мікроосередку некрозу (овал); б) – слабкі ознаки міоцитолізу; в) – нормальний стан серцево-м'язових волокон. Гематоксилін-еозин, x250

відбувалося відновлення зон деструкцій – більша частина їх вже не містила лізованих залишків клітин, на місці некрозу сформовані гранулеми з перевагою клітин фібробластичного ряду. Самі мікроосередки некрозу кардіоміоцитів були менші як за кількістю, так і за площею зон дезорганізації. Дуже виразно зменшені ознаки міоцитолізу, змін ядер клітин не виявлено. Значні за розміром ділянки серцевого м'яза мали нормальну структуру, поперечне покреслення міофібрил відновлене (рис. 4).

Так само введення таблеток «Тіотриазолін» покращує морфологічний стан міокарда щурів. Зони некрозу дрібні й нечисельні. Гранульоми, сформовані на

місцях некрозу, достатньо «зрілі» – містять переважно фібробласти різного ступеня зрілості. Дистрофічні зміни кардіоміоцитів майже не проглядалися (рис. 5).

Після лікувально-профілактичного введення таблеток «Кратал» щурам з модельованим адреналінгидрокортизоновим інфарктом також відбувалося зниження виразності ознак патології. На більшості ділянок гістоструктура серцево-м'язових волокон відновлена. Осередки некрозу менші за площиною, «заповнені» переважно фібробlastами з домішкою лімфоцитів та гістіоцитів. Зменшена інфільтрація строми міокарда. Проте доволі часто, переважно поблизу

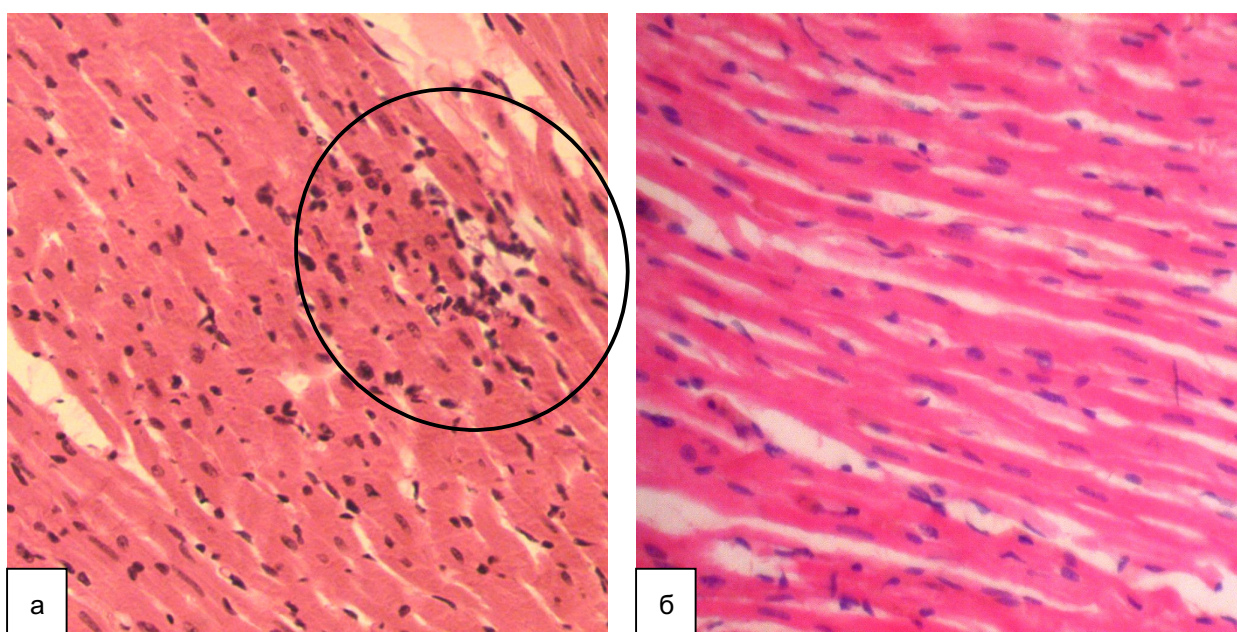


Рис. 5. Міокард щура з адреналінгидрокортизоновим інфарктом після лікувально-профілактичного введення таблеток «Тіотриазолін»: а) – гранульома з клітин фібробластичного ряду на місці осередку некрозу (овал); б) – нормальний стан серцево-м'язових волокон. Гематоксилін-еозин, x250

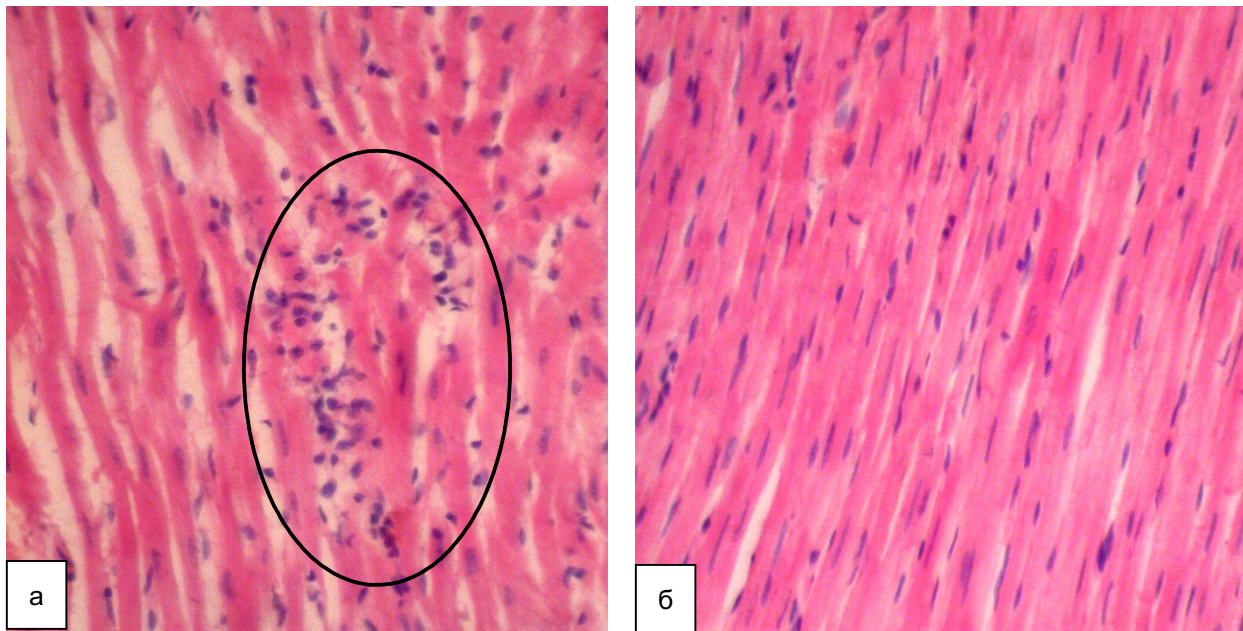


Рис. 6. Міокард щура з адреналінгідрокортизоновим інфарктом після лікувально-профілактичного введення таблеток «Кратал»: а) – формування гранульоми з клітин фібробластичного ряду з домішкою лімфо-гістіоцитів на місці некрозу (овал), фрагментація волокон; б) – дуже помірні ознаки міоцитолізу, загалом нормальний стан серцево-м'язових волокон. Гематоксилін-еозин, x250

зон колишнього некрозу, серцево-м'язові волокна фрагментовані, міжволоконний простір дещо поширений, де-не-де помірні ознаки міоцитолізу (рис. 6).

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Моделювання адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда в щурів супроводжується виникненням вогнищевих некротичних змін м'язових клітин, що в деяких випадках мають початкове формування матриксу, який складається з молодих фібробластів; дистрофічними процесами кардіоміоцитів (міоцитоліз, коливання розміру ядер).

2. Лікувально-профілактичне введення таблеток з екстрактом моркви посівної коренеплодів густим та кверцетином на моделі адреналінгідрокортизонового

інфаркту міокарда чинить кардіопротективну дію, знижуючи виразність некротичних і дистрофічних змін серцевого м'яза.

3. За виразністю кардіопротективної дії таблетки з екстрактом моркви посівної коренеплодів густим та кверцетином на моделі адреналінгідрокортизонового інфаркту міокарда не поступаються препаратам порівняння – таблеткам «Тіотриазолін» і «Кратал».

4. Результати експериментально обґрунтовують доцільність створення нового комбінованого лікарського засобу з моркви посівної коренеплодів екстракту густого та кверцетину для профілактики і фармакокорекції серцево-судинної патології.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Movsisyan N. K., Vinciguerra M., Medina-Inojosa J. R., Lopez-Jimenez F. Cardiovascular Diseases in Central and Eastern Europe: A Call for More Surveillance and Evidence-Based Health Promotion. *Annals of Global Health*. 2020. Vol. 86, № 1. P. 21. DOI: 10.5334/aogh.2713.
2. Epidemiology of cardiovascular disease in Europe / N. Townsend et al. *Nature Reviews Cardiology*. 2022. Vol. 19, № 2. P. 133-143. DOI: 10.1038/s41569-021-00607-3.
3. Murray C. J. L. The Global Burden of Disease Study at 30 years. *Nature Medicine*. *Nat Med*. 2022. Vol. 28, № 10. P. 2019-2026. DOI: 10.1038/s41591-022-01990-1.
4. Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) Results. Seattle : Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2020. URL: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>.
5. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020. Vol. 396, № 10258. P. 1204-1222. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
6. Kaptoge S., Pennells L., De Bacquer D. World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions. *Lancet Global Health*. 2019. Vol. 7, № 10. P. 1332-1345.
7. Arvanitis M., Lowenstein C. J. Dyslipidemia. *Annals of Internal Medicine*. 2023. Vol. 176, № 6. P. ITC81-ITC96. DOI: 10.7326/AITC202306200.
8. Borghi C., Fogacci F., Agnoletti D., Cicero A. F. G. Hypertension and Dyslipidemia Combined Therapeutic Approaches. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2022. Vol. 29, № 3. P. 221-230. DOI: 10.1007/s40292-022-00507-8.
9. Кисличенко О. А., Пазюк Д.-М. В., Горяча Л. М., Журавель І. О. Ідентифікація фенольних сполук моркви посівної коренеплодів екстракту густого. Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine : International research and practice conference, Lublin, 20-21 October 2017. Lublin, 2017. P. 111-112.

10. Characterization of an Acidic Polysaccharides from Carrot and Its Hepatoprotective Effect on Alcoholic Liver Injury in Mice / X. Kong et al. *Chemistry & Biodiversity*. 2021. Vol. 18, № 8. P. e2100359. DOI: 10.1002/cbdv.202100359.
11. Antiatherogenic Effects of Quercetin in the THP-1 macrophage model in vitro, with insights into its signaling mechanisms using In silico analysis / E. A. Huwait et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2021. Vol. 12. P. 698138. DOI: 10.3389/fphar.2021.698138.
12. Кононенко Т., Чикіткіна В. Експериментальне визначення умовнотерапевтичної дози нового комбінованого гіполіпідемічного засобу на основі кверцетину та моркви посівної коренеплодів екстракту густого на моделі гострої гіперліпідемії. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 2. С. 137-146.
13. Шклянко І. В., Жарінов О. Й., Єпанчинцева О. А., Тодуров Б. М. Медикаментозна підготовка пацієнтів до хірургічної реваскуляризації міокарда. *Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія*. 2019. № 4. С. 5-14.
14. Перспективи вивчення застосування препаратів кверцетину в лікуванні COVID-19 / І. А. Зупанець та ін. *Український Медичний Часопис*. 2020. № 2 (136), Т. 1-III/IV. С. 75-78. DOI: 10.32471/umj.1680-3051.136.177136.
15. Спосіб моделювання гострого експериментального адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда: пат. 78443 Україна, № u201206980 ;заявл. 07.06.2012, опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6. 8 с.
16. Maynard R., Downes N., Finney B. Histological techniques: an introduction for beginners in toxicology. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2014. 334 p.
17. Kiernan J. A. Histological and histochemical methods: theory and practice. 5th ed. Banbury : Scion Publishing, 2015. 571 p.
18. Layton C., Bancroft J. D., Suvana S. K. Fixation of tissues. Bancroft's theory and practice of histological techniques / ed. by S. K. Suvana, C. Layton, J. D. Bancroft. 8 th ed. St. Louis : Elsevier, 2019. 40-63.
19. 7-Hydroxy Frullanolide Ameliorates Isoproterenol-Induced Myocardial Injury through Modification of iNOS and Nrf2 Genes / S. Ullah et al. *Biomedicines*. 2023. Vol. 11, № 9. P. 2470. DOI: 10.3390/biomedicines11092470.
20. Cardioprotective potential of polyphenols rich Thraatchathi Chooranam against isoproterenol induced myocardial necrosis in experimental rats / R. Ganapathy et al. *BMC Complement Med Ther*. 2020. Vol. 20, № 1. P. 356. DOI: 10.1186/s12906-020-03124-x.
21. Hashmi S., Al-Salam S. Acute myocardial infarction and myocardial ischemia-reperfusion injury: a comparison. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015. Vol. 8, № 8. P. 8786-8796.
22. Comparative Study of the Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells Derived from Adipose Tissue and Bone Marrow on Acute Myocardial Infarction Model / A. M. Omar et al. *Oman Med J*. 2019. Vol. 34, № 6. P. 534-543. DOI: 10.5001/omj.2019.97.

REFERENCES

1. Movsisyan, N. K., Vinciguerra, M., Medina-Inojosa, J. R., Lopez-Jimenez, F. (2020). Cardiovascular Diseases in Central and Eastern Europe: A Call for More Surveillance and Evidence-Based Health Promotion. *Annals of Global Health*, 86(1), 21. doi: 10.5334/aogh.2713.
2. Townsend, N., Kazakiewicz, D., Wright, L. F., Timmis A., Huculeci, R., Torbica, A. et al. (2022). Epidemiology of cardiovascular disease in Europe. *Nature Reviews Cardiology*, 19(2), 133-143. doi: 10.1038/s41569-021-00607-3.
3. Murray, C. J. L. (2022). The Global Burden of Disease Study at 30 years. *Nature Medicine*. *Nat Med*, 28(10), 2019-2026. doi: 10.1038/s41591-022-01990-1.
4. Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) Results. Seattle : Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2020. Available at : <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>.
5. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. (2020). *Lancet*, 396(10258), 1204-1222. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
6. Kaptoge, S., Pennells, L., De Bacquer, D. (2019). World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions. *Lancet Global Health*, 7(10), 1332-1345.
7. Arvanitis, M., Lowenstein, C. J. (2023). Dyslipidemia. *Annals of Internal Medicine*, 176(6), ITC81-ITC96. doi: 10.7326/AITC202306200.
8. Borghi, C., Fogacci, F., Agnoletti, D., Cicero, A. F. G. (2022). Hypertension and Dyslipidemia Combined Therapeutic Approaches. *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 29(3), 221-230. doi: 10.1007/s40292-022-00507-8.
9. Kyslychenko, O. A., Paziuk, D.-M. V., Horiacha, L. M., Zhuravel, I. O. (2017). Identyfikatsiia fenolnykh spoluk morkvy posivnoi koreneplodiv ekstraktu hustoho. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine*: International research and practice conference, (20-21 October 2017). (p.111-112). Lublin.
10. Kong, X., Liang, W., Li, X., Qiu, M., Xu, W., Chen, H. (2021). Characterization of an Acidic Polysaccharides from Carrot and Its Hepatoprotective Effect on Alcoholic Liver Injury in Mice. *Chemistry & Biodiversity*, 18(8), e2100359. DOI: 10.1002/cbdv.202100359.
11. Huwait, E. A., Saddeek, S. Y., Al-Massabi, R. F., Almowallad, S. J., Pushparaj, P. N., Kalamegam, G. (2021). Antiatherogenic Effects of Quercetin in the THP-1 macrophage model in vitro, with insights into its signaling mechanisms using in silico analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 698138. DOI: 10.3389/fphar.2021.698138.
12. Kononenko, T., Chikitkina, V. (2024). Експериментальне визначення умовнотерапевтичної дози нового комбінованого гіполіпідемічного засобу на основі кверцетину та моркви посівної коренеплодів екстракту густого на моделі гострої гіперліпідемії. *Фітотерапія. Часопис*, 2, 137-146.
13. Shklianka, I. V., Zharinov, O. Y., Yepanchintseva, O. A., Todurov, B. M. (2019). Medykamentozna pidhotovka patsiientiv do khirurgichnoi revaskulyaryzatsii miokarda. *Kardiokhirurhiia ta interventsiiina kardiologiiia*, 4, 5-14.
14. Zupanets, I. A., Holubovska, O. A., Shkurba, A. V., Shebeko, S. K., Shalamai, A. S. (2020). Perspektyvy vyvchennia zastosuvannia preparativ kvartsetynu v likuvanni COVID-19. *Ukrainskyi Medychnyi Chasopys*, 2(136), 75-78. doi: 10.32471/umj.1680-3051.136.177136.
15. Haman, D. V., Kononenko, N. M., Rybalkin, M. V. (2013). Patent Ukrainy 78443. Kharkiv.
16. Maynard, R., Downes, N., Finney, B. (2014). Histological techniques: an introduction for beginners in toxicology. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
17. Kiernan, J. A. (2015). Histological and histochemical methods: theory and practice. 5th ed. Banbury: Scion Publishing.

18. Layton C., Bancroft J. D., Suvarna S. K. (2019). Fixation of tissues. Bancroft's theory and practice of histological techniques 8 th ed. St. Louis: Elsevier.
19. Ullah, S., Ahmad, T., Ikram, M., Rasheed, H. M., Khan, M. I., Khan, T. et al. (2023). 7-Hydroxy Frullanolide Ameliorates Isoproterenol-Induced Myocardial Injury through Modification of iNOS and Nrf2 Genes. *Biomedicines*, 11(9), 2470. doi: 10.3390/biomedicines11092470.
20. Ganapathy, R., Ramachandran, A., Shivalingaiah, S. B., Bishir, M., Bhojaraj, S., Sridhar S. et.al. (2020). Cardioprotective potential of polyphenols rich Thraatchathi Chooranam against isoproterenol induced myocardial necrosis in experimental rats. *BMC Complement Med Ther*, 20(1), 356. doi: 10.1186/s12906-020-03124-x.
21. Hashmi, S., Al-Salam, S. (2015). Acute myocardial infarction and myocardial ischemia-reperfusion injury: a comparison. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(8), 8786-8796.
22. Omar, A. M., Meleis, A. E., Arfa, S. A., Zahran, N. M., Mehanna, R. A. (2019). Comparative Study of the Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells Derived from Adipose Tissue and Bone Marrow on Acute Myocardial Infarction Model. *Oman Med J.*, 34(6), 534-543. doi: 10.5001/omj.2019.97.

Відомості про авторів:

Кононенко Т. Р., аспірантка кафедри клінічної лабораторної діагностики, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: klinlab@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9383-1881>

Чикіткіна В. В., кандидат біологічних наук, доцент кафедри нормальної та патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: valentina.chikitkina@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8277-0388>

Information about the authors:

Kononenko T. R., postgraduate student of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: klinlab@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-9383-1881>

Chikitkina V. V., Candidate of Pharmacy (PhD), associate professor of the Department of Pathological Physiology, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: valentina.chikitkina@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8277-0388>

Надійшла до редакції 27.08.2024 р.

ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ “ВІСНИК ФАРМАЦІЇ”

Загальні вимоги до публікації

Для публікації в журналі подаються статті, які відповідають всім визначеним вимогам, наведеним нижче, та які не були опубліковані раніше і не надсилалися до розгляду редакціям інших журналів.

Відповідальність за достовірність та оригінальність матеріалів несуть автори. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати статті.

Для того, щоб надіслати статтю до журналу та перевірити поточний статус своєї статті, необхідно увійти на сайт (<http://nphj.nuph.edu.ua/>) та зареєструватися як користувач.

До друку приймаються статті українською та англійською мовами.

Обсяг статті – до 10-15 сторінок заданого формату.

Вимоги до змісту статті

Редколегія приймає до розгляду актуальні оригінальні статті, що містять результати досліджень із синтезу та аналізу біологічно активних речовин; досліджень лікарських рослин як джерел лікарських сполук визначеної хімічної природи з доведеною терапевтичною дією; досліджень з обґрунтування складу, розробки технології, контролю якості природних, синтетичних і комбінованих лікарських засобів; формування асортименту, реалізації, зберігання, обігу та споживання лікарських засобів; з оптимізації фармацевтичного забезпечення населення, контингентів хворих відповідно до окремих нозологічних форм; фармацевтичного ціноутворення; удосконалення форм і методів організації та управління фармації, що містять теоретичні або експериментальні результати досліджень, які не були опубліковані раніше.

Вимоги до структури статті

Автори повинні дотримуватись загального плану побудови статті, яка містить визначені підрозділи, назви яких вказуються напівжирним шрифтом без крапки в кінці. Текст з нового рядка. Обов'язкові підрозділи:

Вступ. У вступі визначається постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями. Необхідно обов'язково зазначити аналіз останніх досліджень і публікацій. Потрібно проаналізувати літературні джерела, дотичні до теми статті, а також власні попередні публікації з цієї тематики, які окреслюють наукову проблему. У цьому підрозділі необхідно зазначити результати, які вдалося отримати авторам попередніх видань, та зазначити не вирішені проблеми.

Мета містить постановку завдання.

Матеріали та методи містять характеристику методів та методик, які повинні давати чітке уявлення про об'єктивність отриманих результатів.

Результати та їх обговорення містять результати досліджень, зроблених автором. Вони мають бути викладені чітко та вичерпно з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів.

Висновки та перспективи подальших досліджень містять основні висновки з певного дослідження, його подальшого застосування, критичну оцінку недоліків вивчення проблеми та перспективи подальших досліджень у певному напрямі.

Конфлікт інтересів. Будь-які потенційні конфлікти інтересів повинні бути розглянуті якомога раніше на ранній можливій стадії. Приклади потенційних конфліктів інтересів: оплачені дослідження, консультації, заявки на патент, гранти або інше фінансування, особисті відносини авторів з іншими людьми або організаціями. Редакція повинна застосовувати політику Elsevier щодо розкриття потенційних конфліктів інтересів між авторами і рецензентами, наприклад, керівні принципи ICMJE.

Перелік використаних джерел інформації, розташованих за згадуванням за текстом.

Подання статей

До статті додаються відомості про авторів, які містять: прізвище, ім'я та по батькові (повністю), учене звання, учений ступінь; місце роботи та посаду, яку обіймає автор; назву країни, номери телефонів, E-mail для листування (без підкреслення), ORCID та Researcher ID (за наявності).

Вимоги до технічного оформлення статті

Текст статті друкується кеглем № 14, гарнітура – Times New Roman через 1,5 інтервала на аркуші формату A4 (ширина полів: зліва – 3 см, справа – 1 см, зверху та знизу – по 2 см) і починається з таких даних:

1. УДК (у лівому верхньому кутку).

2. Ініціали та прізвища авторів.

3. Місце роботи (назва організації, країна); кожна інформація подається з нового рядка. Якщо автори з різних організацій, то їх нумерують за допомогою надрядкового знака.

4. Назва статті (напівжирним шрифтом) має містити 10-12 слів, але не більше 95 символів разом із пропусками.

5. Анотація подається двома мовами (українською, англійською), але спочатку мовою статті, у якій наведено такі підрозділи: мета роботи, матеріали та методи, результати та їх обговорення, висновки, ключові слова. Усі підрозділи починаються з абзаців. Обсяг має бути не менше 1800 знаків. Рекомендовано будувати речення за зразком: “Виявлено...”, “Визначено...”, “З'ясовано...”, “Оцінено внесок/вплив/роль...”, “Схарактеризовано закономірності...”, “Розглянуто...” тощо.

6. Словосполучення “Ключові слова” подається з абзацу мовою статті курсивом (ключові слова необхідні для пошукових систем і класифікації статей за темами). Англomовні ключові слова для статей бажано авторам обирати з рубрикатора MeSH Національної бібліотеки медицини США <https://www.nlm.nih.gov/mesh/>. В інтересах автора зазначити кількість ключових слів, необхідних для збільшення шансів знаходження статті

через пошукові системи. Словосполучення вважаються одним ключовим словом. Кількість ключових слів – 5-8. У назвах, резюме та ключових словах використання торгових марок має бути максимально обмежене. Лікарські препарати за текстом мають згадуватись за їх міжнародними непатентованими назвами. У випадках, коли виробник лікарського препарату важливий у контексті дослідження, у дужках після непатентованої назви зазначається назва виробника.

7. Текст статті подається після анотації через інтервал, абзацний відступ – 1 см.

8. У статтях повинна використовуватись система одиниць СІ.

9. Посилання в тексті статті подаються у квадратних дужках із зазначенням порядкового номера в списку літератури. Нумери джерел розділяють комою, напр.: [7, 8, 12]. Крапку в реченні ставлять після дужок посилань.

10. Рисунки і таблиці оформлюються відповідно до ДСТУ 3008-95 та розташовуються в тексті точно в межах друкованого поля книжкової орієнтації сторінок. Уся текстова інформація на рисунках повинна бути чіткою та розбірливою і не містити зайвих деталей (наприклад, на графіках не допускають “вторинних” відміток на координатних осях тощо). Кожен рисунок має підпис (не поєднаний з рисунком), а таблиця – заголовок (вирівнювання по центру). Всі рисунки і таблиці повинні бути послідовно пронумеровані арабськими цифрами. Бажано додавати кольоровий ілюстративний матеріал у графічному форматі JPG, TIFF, PCX та ін. у вигляді додаткових окремих файлів з назвами gys1, gys2. Формули повинні мати наскрізну нумерацію з правого поля і подаватися додатково окремими файлами у форматі Corel Draw 13; Chem Win, ISISdraw; діаграми та рисунки – у форматі Excel або Corel Draw 13. Ширина графічного матеріалу повинна бути розміром до 17,4 см. Інформація, наведена в таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.

11. Перелік використаних джерел інформації (напівжирні літери) подається через інтервал по центру, нумерація джерел за порядком згадування у тексті, без абзацного відступу. Перелік повинен містити публікації за останні 10 років. Оформлення списку використаних джерел інформації має відповідати стандарту ДСТУ 7.1:2006 “Система стандартів з інформації, бібліотечної та видавничої справи. Бібліографічний запис. Бібліографічний опис. Загальні вимоги та правила складання”. Для спрощення процедури оформлення списку літератури за вимогами ВАК рекомендується використовувати ресурс <http://vak.in.ua/>. На кожну роботу в списку літератури повинно бути зроблено посилання в тексті статті.

Основу джерельної бази мають складати наукові статті, опубліковані в престижних журналах галузі впродовж останніх кількох років. Цитування монографій та доповідей конференцій не повинно складати значного відсотка джерельної бази. Варто обмежити посилання на неавторитетні вебресурси, методичні рекомендації, підручники, посібники, тези конференцій. Посилання на URL-адреси мають обов’язково містити зазначення дати звернення до них. Автори повинні використовувати правила щодо скорочень назв видань у посиланнях за стандартами ISO/Medline/CAS. За наявності ідентифікатора DOI процитованих статей це потрібно зазначати.

12. Через інтервал подається список використаних джерел літератури українською та російською мовами, транслітерованій латиницею. Прізвища авторів, назви книг (журналів, конференцій), статей тощо транслітерують, а в квадратних дужках подають переклад назви англійською мовою (зазвичай у всіх статтях присутній авторський переклад назви статті та анотації). Іноземні джерела, викладені латиницею, залишають без змін. Для транслітерації джерел українською мовою рекомендується скористатися Постановою Кабінету Міністрів “Про впорядкування транслітерації українського алфавіту латиницею” від 27.01.2010 № 55 (<http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/55-2010-%D0%BF>), а також такими онлайн-сервісами: “Стандартна українська транслітерація” в режимі паспортний стандарт (<http://translit.kh.ua/?passport>) та “Публічна система транслітерації українського алфавіту латиницею” (<http://ukrlit.org/transliteratsiia#source=0LHRltC70LjQvdGB0YzQutC40LkK0YLQt dGC0Y/QvdCw>). Для джерел російською мовою – “ТРАНСЛИТ CC” (<http://translit.cc>).

13. Відомості про авторів подаються двома мовами, але спочатку мовою статті. Інформація має містити ПІБ автора, посаду, місце роботи, країну, електронну адресу (без підкреслення), ORCID та Researcher ID.

14. Статті, що не відповідають вимогам, не будуть прийняті редакцією та повертаються автору на доопрацювання. Статті, надіслані авторам на виправлення або доопрацювання, повинні бути повернені до редакції не пізніше, ніж через 3 дні після отримання. В авторській коректурі допускається виправлення помилок набору та правильності інформації. Після узгодження оригінал-макета всіма авторами та редакцією претензії з боку авторів редакція не приймає.

15. Після остаточного узгодження статті авторам надсилається **Договір про надання послуг з редакційної підготовки наукової статті до публікації у журналі “Вісник фармації”**. Цей договір з квитанцією про оплату необхідно повернути до редакційно-видавничого відділу НФаУ.

ЗМІСТ / CONTENTS

Л. О. Гала, К. Л. Косяченко, Ж. М. Полова, Л. В. Коношевич ЗРОСТАННЯ РОЛІ ФАРМАЦЕВТА В СУСПІЛЬСТВІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЙОГО ПРОФЕСІЙНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ	3
L. O. Hala, K. L. Kosyachenko, Zh. M. Polova, L. V. Konoshevykh / The growing role of pharmacists in society and prospects for their professional activities	
Н. В. Хохленкова, А. В. Соловйова, О. В. Філіппова, О. С. Калюжная, Н. В. Двінських СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПЕПТИДІВ У КОСМЕЦЕВТИЦІ	10
N. V. Khokhlenkova, A. V. Soloviova, O. V. Filiptsova, O. S. Kaliuzhnaia, N. V. Dvinskykh / The current state and prospects of using peptides in cosmeceuticals	
Vagif Abbasov, Nargiz Orujova, Ayaz Mammadov, Rana Jafarova, Saida Ahmadbayova, Sevda Muradova, Akhmedov Elshan Yunisovich THE SYNTHESIS, ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND THEORETICAL CALCULATIONS OF 4-(4,5-DIPHENYL- 1-(4-(PHENYLDIAZENYL)PHENYL)-1H-IMIDAZOL-2-YL)-N,N-DIMETHYLANILINE	18
Vagif Abbasov, Nargiz Orujova, Ayaz Mammadov, Rana Jafarova, Saida Ahmadbayova, Sevda Muradova, Elshan Akhmedov / Синтез, антимікробна дія та теоретичні розрахунки 4-(4,5-дифеніл-1-(4-(фенілдіазеніл)феніл)- 1H-імідазол-2-іл)-N,N-диметиланіліну	
О. С. Калюжная, Н. В. Хохленкова, М. В. Паненко АНАЛІЗ ТЕХНОЛОГІЙ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО ІНСУЛІНУ	25
O. S. Kaliuzhnaia, N. V. Khokhlenkova, M. V. Panenko / The analysis of recombinant insulin production technologies	
І. О. Давидова, О. А. Рубан, Г. Д. Сліпченко, І. В. Зупанець, О. І. Іванюк ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ СУБЛІНГВАЛЬНИХ ТАБЛЕТОК ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПОРУШЕНЬ ДІЯЛЬНОСТІ ЦНС.....	37
I. O. Davydova, O. A. Ruban, H. D. Slipchenko, I. V. Zupanets, O. I. Ivaniuk / Substantiation of the composition of sublingual tablets for the treatment of CNS disorders	
О. Д. Мацюк, С. В. Олійник, С. С. Зуйкіна, М. В. Буряк, Т. М. Ковальова, Л. А. Боднар РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ХЕЙЛІТУ	43
K. D. Masiuk, S. V. Oliinyk, S. S. Zuykina, L. A. Bodnar, M. V. Buryak, T. M. Kovalyova / The development of the technology of a thick extract for the treatment of cheilitis	
Ю. С. Братішко, К. В. Семченко, В. М. Толочко, М. В. Зарічкова, Д. Р. Зоїдзе, О. М. Должнікова ОРГАНІЗАЦІЙНО-ЕКОНОМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ОБІГУ ПРОТИГЕЛЬМІНТНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ВІТЧИЗНЯНОМУ ФАРМАЦЕВТИЧНОМУ РИНКУ В УМОВАХ СЬОГОДЕННЯ.....	50
Yu. S. Bratishko, K. V. Semchenko, V. M. Tolochko, M. V. Zarichkova, D. R. Zoidze, O. M. Dolzhnikova / Organizational and economic studies of the turnover of anthelmintic drugs in the domestic pharmaceutical market in modern conditions	
М. В. Яромій, С. Д. Загородня, Л. О. Артюх, Н. П. Половко ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИВІРУСНОЇ ДІЇ М'ЯКОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	58
M. V. Yaromiy, S. D. Zahorodnia, L. O. Artiukh, N. P. Polovko / The study of the antiviral effect of a soft dosage form	
С. С. Зуйкіна, П. В. Паливода МЕТОДОЛОГІЯ РОЗРОБКИ ГРАНУЛ З МОДИФІКОВАНИМ ВИВІЛЬНЕННЯМ НА ОСНОВІ ФІТОЕКСТРАКТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ МАСТОПАТІЇ	65
S. S. Zuykina, P. V. Palyvoda / The methodology for developing modified release granules based on phytoextracts for the treatment of mastopathy	

М. В. Буряк, Л. І. Вишневська ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСНОВНИХ ПАРАМЕТРІВ ЕКСТРАКЦІЇ ТРАВИ ГАЙЛАРДІЇ ПУЛЬЧЕЛА (<i>GAILLARDIA PULCHELLA L.</i>).....	71
M. V. Buryak, L. I. Vishnevskya / The experimental substantiation of the main parameters of the extraction of gaillardia herb (<i>Gaillardia pulchella L.</i>)	
О. О. Богатирьова, О. І. Набока ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ПРОФІЛЮ ЛАВАНДИ ВУЗЬКОЛИСТОЇ ТРАВИ ЕКСТРАКТІВ СУХИХ	77
O. O. Bogatyrova, O. I. Naboka / The study of the toxicological profile of dry extracts of narrow-leaved lavender herb	
Н. М. Кононенко, М. С. Анісімова ВПЛИВ НОВОЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЖУРАВЛИНИ ВЕЛИКОПЛІДНОЇ ТА АМІНОКИСЛОТ НА СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ Й ПЕЧІНКИ ЩУРІВ НА МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ	85
N. M. Kononenko, M. S. Anisimova / The effect of a new phytocomposition based on the cranberry leaf extract and amino acids on the pancreas and liver of rats in the model of diabetes mellitus type 2	
О. Ю. Маслов, М. А. Комисаренко, С. В. Колісник THE STUDY OF THE TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY OF St. JOHN'S WORT (<i>HYPERICUM PERFORATUM L.</i>) HERB	97
О. Ю. Маслов, М. А. Комисаренко, С. В. Колісник / Дослідження сумарної антиоксидантної ємності трави звіробою (<i>Hypericum perforatum L.</i>)	
V. M. Odyntsova, N. M. Polishchuk, O. M. Denysenko, V. I. Mozul, V. V. Holovkin, N. V. Zhyvora, Ye. V. Rudko A COMPARATIVE MICROBIOLOGICAL STUDY OF THE ESSENTIAL OILS FROM THE GENUS <i>ROSA L.</i>	102
В. М. Одинцова, Н. М. Поліщук, О. М. Денисенко, В. І. Мозуль, В. В. Головкін, Н. В. Живора, Є. В. Рудько / Порівняльне мікробіологічне дослідження ефірної олії представників роду <i>Rosa L.</i>	
Т. Р. Кононенко, В. В. Чікіткіна ВПЛИВ НОВОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ КВЕРЦЕТИНУ ТА ЕКСТРАКТУ МОРКВИ ПОСІВНОЇ КОРЕНЕПЛОДІВ ГУСТОГО НА ГІСТОЛОГІЧНИЙ СТАН СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА ЩУРІВ ЗА АДРЕНАЛІНГІДРОКОРТИЗОНОВОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА	109
T. R. Kononenko, V. V. Chikitkina / The effect of a new product based on quercetin and a thick extract of carrot seed root on the histological state of the rat cardiac muscle in the adrenaline-hydrocortisone-induced myocardial infarction	
ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ "ВІСНИК ФАРМАЦІЇ"	117