



# Synthesis and properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol

S. O. Fedotov<sup>1</sup>B,C,D, A. S. Hotsulia<sup>1</sup>\*A,C,E

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

The combination of various heterocyclic systems with a wide range of properties is quite expedient and is, in practice, a justified direction for obtaining biologically active substances, which ultimately forms a favorable basis for the creation of drugs. In recent decades, the attention of scientists has been closely focused on nitrogen-containing heterocyclic compounds.

Among such compounds, 1,2,4-triazole and pyrazole occupy a special place. Indeed, on the basis of these systems, a significant number of well-known drugs have been created, which are widely used at the present time.

**The aim** of the work was the synthesis of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, study of their physical and chemical properties, pre-screening studies with subsequent establishment of the feasibility of further pharmacological studies.

**Materials and methods.** Experimental methods of organic chemistry: synthesis using microwave activation, physical and chemical methods for the analysis of organic compounds (determination of the melting point, elemental analysis, <sup>1</sup>H NMR, IR spectroscopy and chromatography-mass spectrometry). Methods for *in silico* pre-screening studies to establish the biological potential in several synthesized compounds (molecular docking).

**Results.** 10 new S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol were synthesized. The structure of the obtained compounds was confirmed by a set of physical and chemical methods of analysis. According to the results of prescreening studies, the main directions of research of biological properties of synthesized compounds were provided.

**Conclusions.** The expediency of using microwave irradiation in the synthesis of a series of S-alkyl derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol had been proved. Based on the results of *in silico* studies, the expediency of further studies of anti-inflammatory, antifungal and anticancer activities in several synthesized compounds had been substantiated.

**Key words:** 5-methylpyrazole, 1,2,4-triazole, synthesis, properties, molecular docking.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 268–274**

## Синтез і властивості S-похідних 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу

С. О. Федотов, А. С. Гоцуля

Доцільним є поєднання різноманітних гетероциклічних систем із широким набором властивостей, оскільки це практично виправданий напрям одержання біологічно активних субстанцій, що формує підґрунтя для створення лікарських засобів. В останні десятиліття увага науковців прикута до нітрогеновмісних гетероциклічних сполук.

Особливе місце з-поміж них посідають 1,2,4-тріазол і піразол, адже на основі цих систем створено чимало відомих лікарських засобів, що нині доволі широко використовують.

**Мета роботи** – синтез S-похідних 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей, здійснення прескринінгових досліджень зі встановленням доцільності фармакологічних досліджень.

**Матеріали та методи.** Застосували експериментальні методи органічної хімії: синтез із використанням мікрохвильової активації, фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (визначення температури плавлення, елементний аналіз, <sup>1</sup>H ЯМР, ІЧ-спектроскопія та хромато-мас-спектрометрія). Здійснили прескринінгові дослідження *in silico* для встановлення біологічного потенціалу в ряду синтезованих сполук (молекулярний докінг).

**Результати.** Встановили оптимальні умови одержання 10 нових S-похідних 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу з використанням мікрохвильового опромінення. Будову сполук підтвердили комплексом фізико-хімічних методів аналізу. За результатами прескринінгового аналізу визначили основні напрями досліджень біологічних властивостей синтезованих сполук.

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/243176>

UDC 547.792'367.03/04.057:615.31.015.4

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.243176](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 268–274**

**Key words:** 5-methylpyrazole, 1,2,4-triazole, synthesis, properties, molecular docking.

\*E-mail: [andrey.goculya@gmail.com](mailto:andrey.goculya@gmail.com)

Received: 23.09.2021 // Revised: 12.10.2021 // Accepted: 18.10.2021

**Висновки.** Доведено доцільність застосування мікрохвильового опромінення під час синтезу ряду S-алкілпохідних 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу. У результаті дослідження *in silico* обґрунтовано доцільність вивчення протизапальної, протигрибкової та протиракової активностей у ряду синтезованих сполук.

**Ключові слова:** 5-метилпіразол, 1,2,4-тріазол, синтез, властивості, молекулярний докінг.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 268–274**

## Синтез и свойства S-производных 4-амино-5-(5-метилпиразол-3-ил)-1,2,4-триазол-3-тиола

С. О. Федотов, А. С. Гоцуля

Целесообразно сочетание различных гетероциклических систем с широким набором свойств, так как это оправданное на практике направление получения биологически активных субстанций. В итоге это формирует основу для создания лекарственных средств. В последние десятилетия внимание учёных приковано к азотсодержащим гетероциклическим соединениям. Особое место среди них занимают 1,2,4-триазол и пиразол, ведь на основе этих систем было создано значительное количество известных лекарственных средств, которые достаточно широко используют.

**Цель работы** – синтез S-производных 4-амино-5-(5-метилпиразол-3-ил)-1,2,4-триазол-3-тиола, изучение их физико-химических свойств, проведение прескрининговых исследований с установлением целесообразности дальнейших фармакологических исследований.

**Материалы и методы.** Применили экспериментальные методы органической химии: синтез с использованием микроволновой активации, физико-химические методы анализа органических соединений (определение температуры плавления, элементный анализ, <sup>1</sup>H ЯМР, ИК-спектроскопия и хромато-масс-спектрометрия). Провели прескрининговые исследования *in silico* для установления биологического потенциала в ряду синтезированных соединений (молекулярный докиннг).

**Результаты.** Установлены оптимальные условия получения 10 новых S-производных 4-амино-5-(5-метилпиразол-3-ил)-1,2,4-триазол-3-тиола с использованием микроволнового облучения. Строение полученных соединений подтверждено комплексом физико-химических методов анализа. По результатам прескринингового анализа определены основные направления исследований биологических свойств синтезированных соединений.

**Выводы.** Доказана целесообразность применения микроволнового облучения при синтезе ряда S-алкілпроизводных 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіола. По результатам дослідження *in silico* обоснована целесообразность дальнейшего изучения противовоспалительной, противогрибковой и противораковой активностей в ряду синтезированных соединений.

**Ключевые слова:** 5-метилпиразол, 1,2,4-триазол, синтез, свойства, молекулярный докиннг.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 268–274**

Today, many research teams are studying the synthetic and biological properties of new compounds based on the nitrogen-containing system 1,2,4-triazole [1–6]. It is known that the introduction of various substituents in the structure of the nucleus of 1,2,4-triazole has a positive effect not only on the increase of existing and the emergence of new pharmacological activity but also allows offering more options for chemical transformations [4–8]. It is important to note the fact that 1,2,4-triazole derivatives, in addition to high biological activity, are mostly low-toxic or virtually non-toxic compounds. Analysis of the available literature data revealed that the combination of triazole and pyrazole fragments within one molecule has a certain level of practical significance and is interesting.

### Aim

The aim of this work was to develop a preparative method for the synthesis of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol using microwave irradiation, followed by study of physical and chemical properties and establishing the biological potential of the obtained compounds.

### Materials and methods

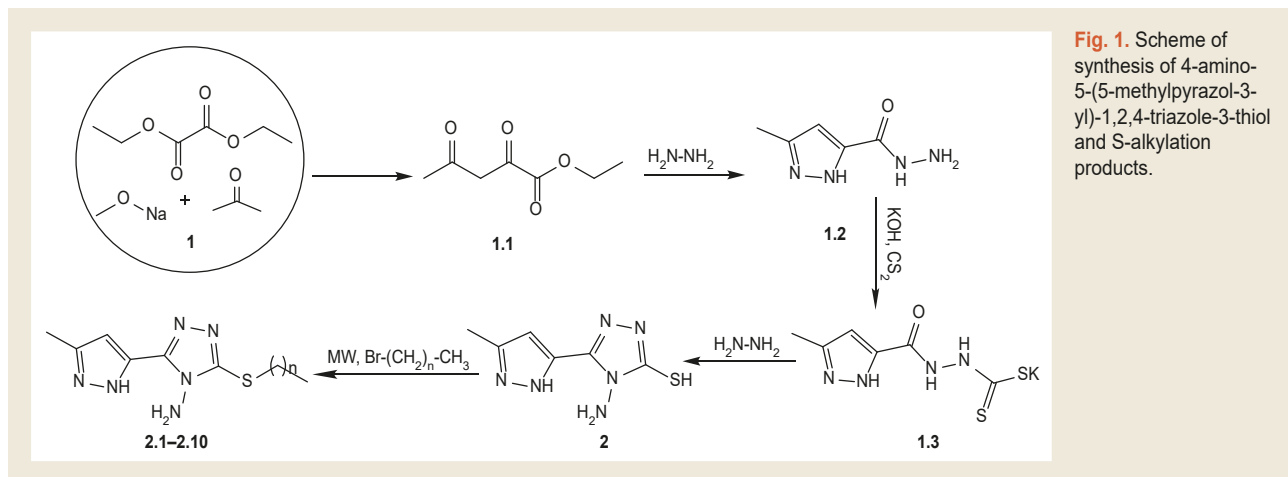
The synthetic part of the study consisted of resynthesis of 5-methylpyrazole and subsequent chemical conversion to

4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol by a known method [9,10].

S-alkylation of the starting compound was performed under microwave irradiation using a microwave synthesis system Milestone FlexiWave (time – 30 min, temperature – 160 °C, pressure – 11.2 bar, power – 400 W) in propan-2-ol medium without the addition of equivalent amount of alkali, which allowed to obtain pure alkylthio derivatives with high yield (*Fig. 1*).

Synthesized haloalkanes were white crystalline substances, soluble in alcohols, insoluble in water. The structure of the obtained compounds was confirmed by a package of modern physical and chemical methods of analysis (<sup>1</sup>H NMR spectroscopy, IR spectroscopy) and their individuality by chromat-mass spectrometry.

Docking studies were performed on all compounds 2.0–2.10 using the AutoDock Vina<sup>®</sup> software package. Enzyme structures for *in silico* studies were obtained from Protein Data Bank (PDB). Preliminary optimization of 2.0–2.10 molecules was performed using the HyperChem 7.5 program by the MM<sup>+</sup> molecular mechanics' method until the RMS gradient was less than 0.1 kcal/(mol·Å). The final minimization of the energies of the studied structures was carried out by the semi-empirical quantum chemical method PM3 until the RMS gradient was less than 0.01 kcal/(mol·Å).



**Fig. 1.** Scheme of synthesis of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and S-alkylation products.

## Results

Analysis of  $^1\text{H}$  NMR spectra showed that the protons of S-alkyl fragments resonate in a strong part of the field in the form of signals with different intensities in the range 3.14–0.82 ppm. For example, singlet signals of methyl protons of the thiomethyl fragment were present in the range of 3.14–3.08 ppm. Multiple proton signals of methylene fragments were recorded in a stronger field (1.97–1.20 ppm). A gradual increase in the length of the S-alkyl chain leads to a slight shift in the signals of the protons of the methyl group in the stronger part of the field.

Proton signals of methylene moieties of S-alkyl substituents were conducted in a similar way but were difficult to differentiate because they form mostly multiproton multiplets. Exceptions were only signals of protons of the methylene group directly with the sulfur atom. In this case, there was a signal in the form of a triplet. The formation of a positive inductive effect contributed to these changes. Thus, the signal of protons of the methyl group gradually shifts to 0.83 ppm.

The IR spectrum of the synthesized thiol (2.0) was characterized by the presence of clear bands of deformation and valence oscillations of strong and medium intensity of the main fragments of the molecule: planar deformation oscillations CH in the region 1229–950  $\text{cm}^{-1}$  (bands of low intensity at 1229–1182  $\text{cm}^{-1}$ , 1045–1029  $\text{cm}^{-1}$ , 1013–998  $\text{cm}^{-1}$ , 975–960  $\text{cm}^{-1}$ ), out-of-plane deformation oscillations CH in the region 998–663  $\text{cm}^{-1}$  (bands of strong intensity at 781–765  $\text{cm}^{-1}$ , 687–672  $\text{cm}^{-1}$ ). There was the presence of a band of valence vibrations of the SH group in the range of 3298–3280  $\text{cm}^{-1}$ . The oscillation bands of the C=N fragment in the region of 1548–1530  $\text{cm}^{-1}$  were also recorded.

In the spectra of the synthesized alkyl derivatives (2.0–2.10) deformation oscillations of alkyl groups in the range from 645  $\text{cm}^{-1}$  to 1390  $\text{cm}^{-1}$  and the H-C-H fragment in the narrow frequency range 1485–1360  $\text{cm}^{-1}$  were observed. In the spectra of the synthesized alkyl derivatives (2.1–2.10) deformation oscillations of alkyl groups in the range from 645  $\text{cm}^{-1}$  to 1390  $\text{cm}^{-1}$  and the H-C-H fragment in the narrow frequency range 1485–1360  $\text{cm}^{-1}$  were observed.

**4-Amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol (2.0).** Yield: 71 %; m. p.: 218–216 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.74 (s, 1H, SH); 13.11 (1H, s, NH-pyrazole), 6.63 (s, 1H, CH-pyrazole), 5.98 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole). ESI-MS:  $m/z = 197$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>S: C, 36.72; H, 4.11; N, 42.83; S, 16.34. Found: C, 36.81; H, 4.12; N, 42.75; S, 16.32.

**3-(5-Methylpyrazol-3-yl)-5-methylthio-1,2,4-triazole-4-amine (2.1).** Yield: 79 %; m. p.: 196–194 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.07 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.65 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.02 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.67 (t, 3H, S-CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole). ESI-MS:  $m/z = 211$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>S: C, 39.99; H, 4.79; N, 39.97; S, 15.25. Found: C, 39.89; H, 4.80; N, 39.87; S, 15.29.

**3-Ethylthio-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-4-amine (2.2).** Yield: 82 %; m. p.: 193–191 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.10 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.61 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.05 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.13 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.36 (t, 3H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 225$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>S: C, 42.84; H, 5.39; N, 37.47; S, 14.29. Found: C, 42.74; H, 5.38; N, 37.56; S, 14.32.

**3-(5-Methylpyrazol-3-yl)-5-propylthio-1,2,4-triazole-4-amine (2.3).** Yield: 76 %; m. p.: 186–184 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.05 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.67 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.01 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.11 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.92–1.56 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.05 (s, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 239$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>S: C, 45.36; H, 5.92; N, 35.27; S, 13.45. Found: C, 45.47; H, 5.91; N, 35.18; S, 13.41.

**3-Butylthio-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-4-amine (2.4).** Yield: 71 %; m. p.: 182–180 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.08 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.63 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.04 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.14 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.30 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.84–1.50 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.46–1.33 (m, 2H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.92 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 253$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S: C, 47.60; H, 6.39; N, 33.31; S, 12.71. Found: C, 47.49; H, 6.40; N, 33.23; S, 12.74.

**3-(5-Methylpyrazol-3-yl)-5-pentylthio-1,2,4-triazole-4-amine (2.5).** Yield: 74 %; m. p.: 172–174 °C;  $^1\text{H}$  NMR, *d*, ppm: 13.04 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.57 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.07 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.10 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.87–1.55 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.49–1.25 (m, 4H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.83

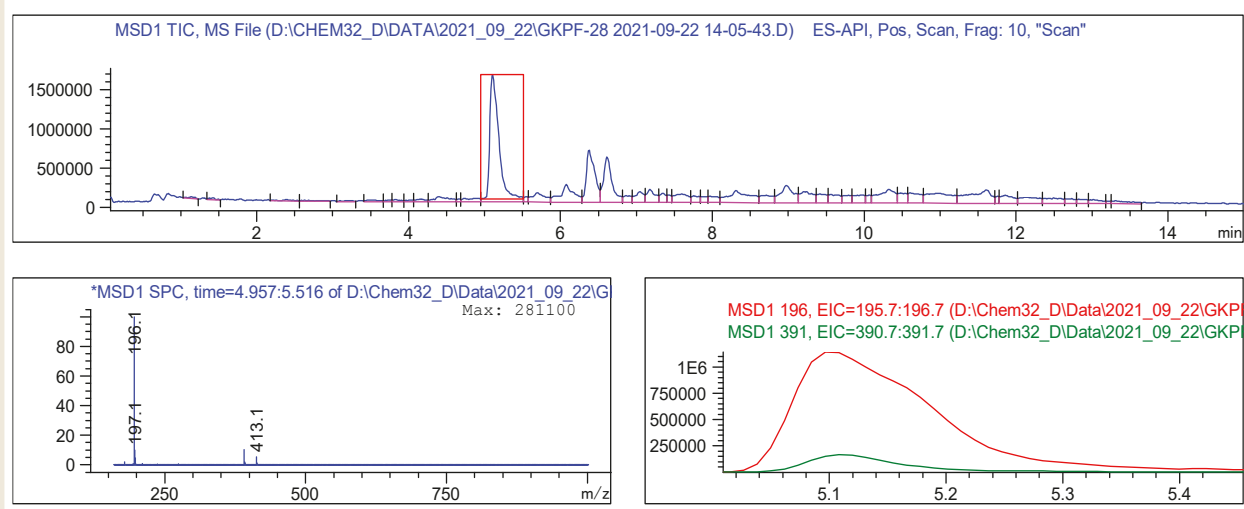


Fig. 2. Chromato-mass spectrum of compound 2.0.

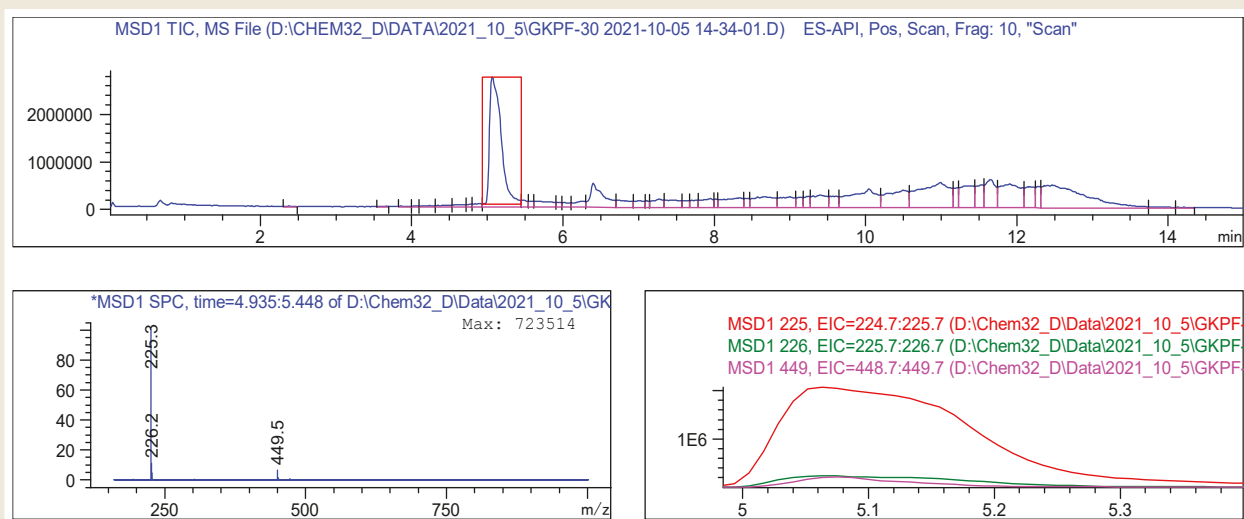


Fig. 3. Chromato-mass spectrum of compound 2.2.

(t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 267$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>S: C, 49.60; H, 6.81; N, 31.55; S, 12.04. Found: C, 49.69; H, 6.82; N, 31.47; S, 12.01.

**3-Hexylthio-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-4-amine (2.6).** Yield: 78%; m. p.: 177–179 °C; <sup>1</sup>H NMR, *d*, ppm: 13.08 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.59 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.05 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.12 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.69–1.51 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.39–1.24 (m, 6H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.84 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 281$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>S: C, 51.40; H, 7.19; N, 29.97; S, 11.43. Found: C, 51.30; H, 7.18; N, 29.91; S, 11.45.

**3-Heptylthio-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-4-amine (2.7).** Yield: 70%; m. p.: 170–172 °C; <sup>1</sup>H NMR, *d*, ppm: 13.09 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.55 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.07 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.08 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.74–1.63 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.31–1.22 (m, 8H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.82 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>).

ESI-MS:  $m/z = 295$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>S: C, 53.03; H, 7.53; N, 28.54; S, 10.89. Found: C, 53.12; H, 7.54; N, 28.49; S, 10.87.

**3-(5-Methylpyrazol-3-yl)-5-octylthio-1,2,4-triazole-4-amine (2.8).** Yield: 74%; m. p.: 162–164 °C; <sup>1</sup>H NMR, *d*, ppm: 13.06 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.59 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.06 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.10 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.82–1.56 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.43–1.22 (m, 10H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.86 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 309$  [M+H]<sup>+</sup>. Analytical calculated (%) for C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>S: C, 54.52; H, 7.84; N, 27.25; S, 10.39. Found: C, 54.62; H, 7.83; N, 27.20; S, 10.41.

**3-(5-Methylpyrazol-3-yl)-5-nonylthio-1,2,4-triazole-4-amine (2.9).** Yield: 70%; m. p.: 166–168 °C; <sup>1</sup>H NMR, *d*, ppm: 13.11 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.56 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.05 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.12 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.70–1.66 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.30–1.21 (m, 12H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.84 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>).



**Table 1.** Energy values of the intermolecular interactions of the studied compounds with COX-1 (3N8Y)

N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol
2.0	-4.9	2.4	-5.7	2.8	-7.0
2.1	-4.5	2.5	-6.1	2.9	-7.3
2.2	-5.0	2.6	-5.5	2.10	-7.0
2.3	-5.3	2.7	-6.6	Diclofenac	-6.2

$E_{min}$ : the minimum energy of complex formation.

**Table 2.** Energy values of the intermolecular interactions of the studied compounds with lanosterol-14 $\alpha$ -demethylase (3LD6)

N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol
2.0	-4.9	2.4	-7.5	2.8	-8.4
2.1	-6.5	2.5	-7.7	2.9	-8.9
2.2	-6.6	2.6	-8.1	2.10	-9.4
2.3	-6.8	2.7	-8.1	Ketoconazole	-8.1

$E_{min}$ : the minimum energy of complex formation.

ESI-MS:  $m/z = 323$   $[M+H]^+$ . Analytical calculated (%) for  $C_{15}H_{26}N_6S$ : C, 55.87; H, 8.13; N, 26.06; S, 9.94. Found: C, 55.76; H, 8.12; N, 26.11; S, 9.96.

**3-Decylthio-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-4-amine (2.10).** Yield: 68 %; m. p.: 158–160 °C;  $^1H$  NMR,  $d$ , ppm: 13.11 (s, 1H, NH-pyrazole), 6.53 (s, 1H, CH-pyrazole), 6.05 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 3.10 (t, 2H, S-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-pyrazole), 1.74–1.63 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.41–1.30 (m, 2H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.34–1.20 (m, 12H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 0.82 (t, 3H, S-(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub>-CH<sub>3</sub>). ESI-MS:  $m/z = 337$   $[M+H]^+$ . Analytical calculated (%) for  $C_{16}H_{28}N_6S$ : C, 57.11; H, 8.39; N, 24.98; S, 9.53. Found: C, 57.21; H, 8.40; N, 24.93; S, 9.50.

Individual peaks of molecular ions  $[M+1]$  were recorded in the chromatogram-mass spectra, which had a high intensity, which confirms the structure and individuality of the compounds (Fig 2, 3).

**Molecular docking.** It is noteworthy that a significant number of antifungal drugs contain a fragment of 1,2,4-triazole (fluconazole, itraconazole, voriconazole, posaconazole). Triazole-containing anastrozole and letrozole were also quite effective anticancer drugs. On the other hand, the presence of pyrazole enzyme indicates the feasibility of testing for anti-inflammatory activity.

Molecular docking was performed to obtain structural information on the interaction of the synthesized compounds and the corresponding biological structure. For this purpose, the X-ray crystal structures of the corresponding biological targets from the protein database (PDB-ID) in complex with the standard ligand were previously downloaded: cyclooxygenase-1 with diclofenac (3N8Y), lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase with ketoconazole (3LD6), kinases of anaplastic lymphoma in the complex of crizotinib (2XP2) [11–13]. The use of cyclooxygenase-1 as a model enzyme is dictated by the need to determine the possible impact on the complex of processes, and not only on the inflammatory response. At the same time, a few highly effective antifungal agents have a 1,2,4-triazole fragment in their

structure, so the choice in favor of 14 $\alpha$ -demethylase as a model enzyme is obvious. The choice of anaplastic lymphoma kinase to determine the affinity of the synthesized substances to its active center is due to the use of known anticancer drugs created based on nitrogen-containing heterocycles.

The ligands (diclofenac, ketoconazole, crizotinib) were previously removed from the primary structures. It was carried out the joining of different ligands to the protein using AUTODOCK. The conformations of the ligand were analyzed in terms of energy, hydrogen bonding and hydrophobic interaction between the ligand and the receptor protein. A detailed analysis of the ligand-receptor interactions was performed, and the final coordinates of the ligand and receptor were saved as pdb files. The free binding energy (FEB) of all compounds was calculated [14–17].

In order to investigate the probability of detection of molecules with molecules with anti-inflammatory activity, the interaction parameters with the active center of cyclooxygenase-1 (COX-1) were studied (Table 1). These studies have found that synthesized compounds form chemical bonds with the following amino acid residues: ASN B: 68, TYR B: 38, TYR B: 39. At the same time, the presence of  $\pi$ -alkyl hydrophobic interactions with such amino acid residues as LYS B: 4668, PRO B: 35, PRO B: 40, PRO B: 434, TYR B: 38, TYR B: 55.

Visualization of the interaction of active structures with the active site of lanosterol-14 $\alpha$ -demethylase revealed that they have chemical bonds with the following amino acid residues: GLY A: 310, HIS A: 381, ILE A: 139, LEU A: 380, MET A: 509, PHE A: 134, PHE A: 241, PHE A: 384, TYR A: 126, VAL A: 311 (Fig. 4). The estimated free energy of binding of the synthesized substances of their lowest energy positions with lanosterol-14 $\alpha$ -demethylase was calculated (Table 2). Synthesized substances 2.6–2.10 showed a good range of binding energies from -8.1 to -9.4 kcal/mol.

The obtained substances were stabilized in the active center of anaplastic lymphoma kinase due to intermolecular hydrogen chemical bond with MET A: 1199, alkyl hydrophobic

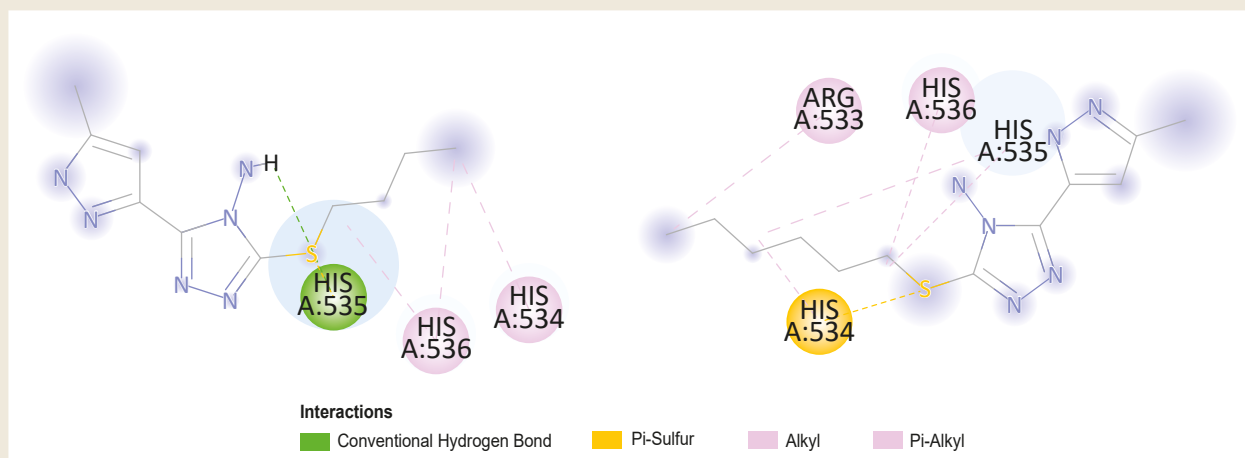


Fig. 4. Visualization of the affinity of the lanosterol-14 $\alpha$ -demethylase with compound 2.10.

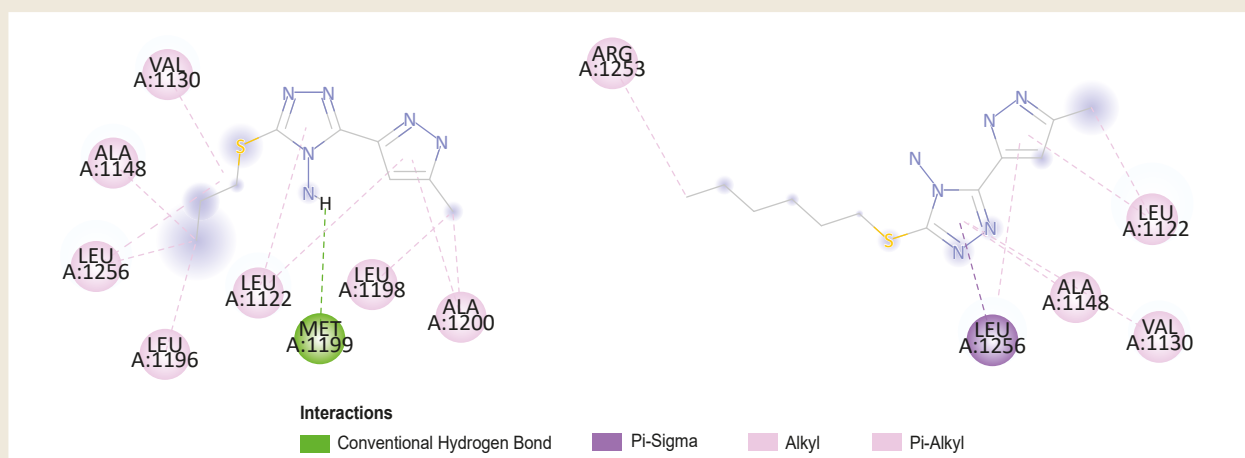


Fig. 5. Visualization of the affinity of the anaplastic lymphoma kinase with compounds 2.5 and 2.10.

with ALA A: 1200, LEU A: 1122, LEU A: 1196, LEU A: 1198, LEU A: 1256, LYS A: 1150 (Fig. 5). Moreover, attention is drawn to the presence of a certain amount of  $\pi$ -alkyl and  $\pi$ -anion hydrophobic interactions with the active site of the enzyme (with ALA A: 1200, LEU A: 1122 and GLU A: 1122), which had an immediate effect on the stability of a particular biologically active substance in the active site (Fig. 5).

Calculations of the free binding energy showed that an increase in the length of the S-alkyl fragment of the synthesized substances can have a positive effect on the affinity with the active site of the enzyme (Table 3). The most significant level of interaction with the active center of the enzyme were

demonstrated by substances 2.8 and 2.10 with values of the free energy of interaction -8.0 kcal/mol and -8.4 kcal/mol accordingly (Table 3).

## Discussion

The performed docking studies suggest that the synthesized S-alkyl derivatives exhibit the ability to bind to the active sites of COX-1, lanosterol 14- $\alpha$ -demethylase, and anaplastic lymphoma kinase.

It is also necessary to emphasize the participation of all fragments of molecules of new substances in interactions with the active site of enzymes.

Table 3. Energy values of the intermolecular interactions of the studied compounds with anaplastic lymphoma kinase (2XP2)

N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol	N	$E_{min}$ , kcal/mol
2.0	-5.5	2.4	-6.7	2.8	-8.0
2.1	-5.2	2.5	-6.5	2.9	-7.9
2.2	-6.0	2.6	-6.8	2.10	-8.4
2.3	-6.4	2.7	-7.4	Crizotinib	-7.6

$E_{min}$ : the minimum energy of complex formation.

Comparison of the calculated  $E_{\min}$  values in the series of synthesized substances made it possible to establish the effect of the length of the S-alkyl fragment on the affinity with the active site of the enzymes under consideration. Moreover, the transition from a methyl substituent to a decyl substituent was accompanied by an increase in this affinity. Alkyl hydrophobic interactions of the synthesized substances with amino acid residues of the corresponding enzymes had a significant influence on the formation of this dependence.

## Conclusions

1. Using the appropriate bromalkanes as alkylating agents (bromopropane, bromobutane, bromopentane, bromohexane, bromoheptane, bromooctane, bromonan, bromodecane), the reaction of nucleophilic substitution 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol was investigated. 10 new compounds were obtained. The structure was confirmed by complex modern physical and chemical methods of analysis (elemental analysis, PMR spectroscopy, chromatographic mass spectrometry), and their individuality was chromatographic.

2. The performed docking studied suggest that an increase in the length of the S-alkyl fragment increases the likelihood of anti-inflammatory, antifungal, and anticancer activity. Moreover, in molecules with an even number of carbon atoms in the alkyl substituent, this probability will only increase.

**Prospects for further research.** According to the research results it is planned to expand the line of this class of compounds to identify promising biologically active compounds among them.

## Funding

The research is carried out within the RDW of Zaporizhzhia State Medical University "Synthesis, physicochemical and biological properties of 3,4-disubstituted 3(5)-thio-1,2,4-triazole with antioxidant, antihypoxic, antimicrobial, cardio and hepatoprotective action", state registration number 0118U007143.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about authors:

Fedotov S. O., PhD-student of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-0421-5303](https://orcid.org/0000-0002-0421-5303)

Hotsulia A. S., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9696-221X](https://orcid.org/0000-0001-9696-221X)

## Відомості про авторів:

Федотов С. О., аспірант каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Гоцуля А. С., д. фарм. наук, доцент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Федотов С. О., аспирант каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гоцуля А. С., д-р фарм. наук, доцент каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Boraei, A. T. A., El Ashry, E. S. H., & Duerkop, A. (2016). Regioselectivity of the alkylation of S-substituted 1,2,4-triazoles with dihaloalkanes. *Chemistry Central Journal*, 10, 22. <https://doi.org/10.1186/s13065-016-0165-0>
- [2] Varynskyi B., Kaplaushenko A., & Parchenko V. (2018). Electrospray ionization mass spectrometry fragmentation pathways of salts of some 1,2,4-triazolylthioacetate acids, the active pharmaceutical ingredients. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10), 303-312. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i10.16564>
- [3] Varynskyi, B. (2019). PIPEridinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4h-1,2,4-triazol)-3-yl) acetate forced degradation study. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 43(2), 117-134. <https://doi.org/10.33483/jfpau.480073>
- [4] Hulina, Yu. S., & Kaplaushenko, A. G. (2018). Synthesis, physical and chemical properties of 5-((1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-thiols and their chemical transformations. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*, 10(1), 26-30.
- [5] Samelyuk, Y. G., & Kaplaushenko, A. G. (2014). Synthesis of 3-alkyl-thio(sulfo)-1,2,4-triazoles, containing methoxyphenyl substituents at C<sup>2</sup>atoms, Their antipyretic activity, Propensity to adsorption and acute toxicity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(5), 1117-1121.
- [6] Can, N. Ö., Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Levent, S., Korkut, B., Özkay, Y., & Kopal, A. S. (2017). Synthesis, Molecular Docking Studies, and Antifungal Activity Evaluation of New Benzimidazole-Triazoles as Potential Lanosterol 14 $\alpha$ -Demethylase Inhibitors. *Journal of Chemistry*, 2017, 9387102. <https://doi.org/10.1155/2017/9387102>
- [7] Kaur, R., Dwivedi, A. R., Kumar, B., & Kumar, V. Recent (2016). Developments on 1,2,4-triazole nucleus in anticancer compounds. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16(4), 465-489. <https://doi.org/10.2174/1871520615666150819121106>
- [8] Gotsulya, A. S., Panasenko, O. I., Knysh, Ye. G., & Knyazevich, P. S. (2015). Synthesis and physical-chemical research of 7-((3-thio-4R-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline carbonyl derivatives. *Zaporozhye medical journal*, (3), 103-107. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2015.3.44510>
- [9] Hotsulia, A. S. *Syntezy, peretvorennya, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyivosti v riadu N- ta S-zamishchenykh 1,2,4-triazol-3-tiolu, yakii mistiat yadro pirolu, pirazolu, purynu ta ksantynu* [Synthesis, transformation, physicochemical and biological properties in number N- ta S-substituted 1,2,4-triazole-3-thiol, which contain the core of pyrrole, pyrazole, purine and xanthine (Doctoral dissertation)]. Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
- [10] Gotsulya A. S. (2020). Synthesis and antiradical activity of alkyl derivatives of 5-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44(2), 211-219. <https://doi.org/10.33483/jfpau.6161161>
- [11] Abdellail, E., Lamie, P. F., Ahmed, A., & El-Nahass, E. S. (2019). COX-1/COX-2 inhibition assays and histopathological study of the new designed anti-inflammatory agent with a pyrazolopyrimidine core. *Bioorganic chemistry*, 86, 235-253. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.031>
- [12] Odds, F. C., Brown, A. J., & Gow, N. A. (2003). Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends in microbiology*, 11(6), 272-279. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(03\)00117-3](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(03)00117-3)
- [13] Kummari, L. K., Butler, M. S., Furlong, E., Blundell, R., Nouwens, A., Silva, A. B., Kappler, U., Fraser, J. A., Kobe, B., Cooper, M. A., & Robertson, A. (2018). Antifungal benzo[b]thiophene 1,1-dioxide IMPDH inhibitors exhibit pan-assay interference (PAINS) profiles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(20), 5408-5419. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.09.004>
- [14] Othman, A. A., Kihel, M., & Amara, S. (2019). 1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives as potential antibacterial agents. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 1660-1675. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.09.003>
- [15] Biovia. (2019). *Discovery Studio Visualizer*, V19.1.0.18287 [Software]. <http://www.3dsbiovia.com/>
- [16] ChemAxon. (2015). *MarvinSketch, Version 6.3.0*. [Software]. <http://www.chemaxon.com>
- [17] Worldwide Protein Data Bank. (n.d.). *Protein Data Bank (PDB)* [Database]. <http://www.pdb.org>



# Comparative chromato-mass spectrometric study of tinctures based on *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Yu. I. Korniiievskiy<sup>1,A,F</sup>, D. Yu. Skoryna<sup>1,B,C,D</sup>, V. H. Korniiievskaya<sup>1,B,C</sup>, N. V. Kandybei<sup>1,2,C</sup>

<sup>1</sup>Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, <sup>2</sup>PJSC VIOLA Pharmaceutical Factory, Zaporizhzhia, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

An urgent problem today is the spread of secondary immunodeficiencies associated with increased stress, urbanization, and negative changes in the environment that lead to impaired immune function. Herbal remedies are milder, less likely to become addictive and have side effects, and are long-lasting. A promising plant with immunomodulatory action is *Echinacea purpurea* (L.) Moench, a member of the family *Asteraceae*. The main active ingredients of echinacea are phenolic compounds, carbohydrates, and alkylamides. The chemical composition of echinacea is also represented by flavonoids, tannins, saponins, higher fatty acids, amino acids, betaine, essential oil, macro- and microelements (Se, Co, Ag, Mo, Zn, Mg, K, Na, Fe, etc.). Drugs have immunostimulatory, antioxidant, membrane-stabilizing effect, promote healing of wounds, burns, ulcers, are used in infectious and viral diseases, especially HF. They are traditionally used for furunculosis, septicemia (infection of the blood), pyorrhea, tonsillitis, especially for the treatment of boils, carbuncles, and abscesses. It is also important that in modern pharmaceutical science the leading place is occupied by research related to the introduction into medical practice of herbal medicines, the study of their chemical composition, standardization, development of optimal technologies for the manufacture of phytopreparations. That is why the objects of our research were tinctures based on *Echinacea purpurea*.

**The aim of the work** is to study and compare the component composition of tinctures based on *Echinacea purpurea* (L.) Moench using gas chromatography (GC).

**Materials and methods.** Tinctures of rhizomes with roots of *Echinacea purpurea* were used for the study: experimental – made according to industrial technological recipe (1:5, extractant – ethanol 70 %) from raw materials harvested in July 2019 at the research site of Zaporizhzhia State Medical University and control – finished products LLC “Zhytomyr Pharmaceutical Factory”, series 20319. Tinctures were investigated on a gas chromatograph Agilent 7890B with mass spectrometric detector 5977B. The NIST14 mass spectrum library was used to identify the components.

**Results.** 31 (experimental) and 23 (control) components were identified by GC in rhizomes with rhizomes of *Echinacea purpurea*. The results of the study indicate that the qualitative and quantitative chemical composition of rhizomes with roots of *Echinacea purpurea* was characterized by complexity and variability. This fact complicates the process of standardization of phytopreparations and can affect their effectiveness and safety. Therefore, members of the genus *Echinacea* should be the subject of further in-depth chemical study.

**Conclusions.** A comparative analysis of the component composition of tinctures based on *Echinacea purpurea* (L.) Moench was studied and performed with the help of GC. The GC method is suitable for the determination of natural BAS in the composition of phytopreparations from echinacea and can be used in the development of methods for their standardization. The results of the study were of value for further development and improvement of analytical regulations for raw materials and phytopreparations from *Echinacea purpurea*. They can also be the basis for the creation of new substances with immunomodulatory activity based on the underground organs of echinacea.

**Key words:** gas chromatography, Echinacea, component composition, immunomodulatory action.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 275–281**

## Порівняльне хромато-мас-спектрометричне дослідження настоек на основі *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Ю. І. Корнієвський, Д. Ю. Скорина, В. Г. Корнієвська, Н. В. Кандибей

Актуальною проблемою є поширення вторинних імунодефіцитів, пов'язаних із підвищеними стресовими навантаженнями, урбанізацією та негативними змінами в екології, що призводять до порушень функціонування імунної системи. Препарати, які виробляють на основі лікарських рослин, характеризуються більш м'якою дією, меншою імовірністю розвитку звикання та побічних ефектів, а також можливістю доволі тривалого застосування. Ехінацея пурпурова (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), представник родини *Asteraceae*, – перспективна рослина з імуномодулювальною дією. Основними діючими речовинами ехінацеї є фенольні сполуки, вуглеводи й алкіламіди. Хімічний склад ехінацеї включає також флавоноїди, дубильні речовини, сапоніни, вищі жирні кислоти, амінокислоти, бетаїн, ефірну олію, макро- та мікроелементи (Se, Co, Ag, Mo, Zn, Mg, K, Na, Fe тощо). Лікарські препарати чинять імуностимулювальну, антиоксидантну, мембраностабілізуювальну дії, сприяють загоєнню ран, опіків, виразок; їх застосовують при інфекційних і вірусних захво-

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/242845>

UDC 615.451.16:582.998.1].074:543.544

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.242845](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.242845)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 275–281**

**Key words:** gas chromatography, Echinacea, component composition, immunomodulatory action.

\*E-mail: [kornievsk@gmail.com](mailto:kornievsk@gmail.com)

Received: 20.09.2021 // Revised: 05.10.2021 // Accepted: 11.10.2021



рюваннях, особливо верхніх дихальних шляхів. Традиційно їх використовують при фурункульозі, септицемії (зараженні крові), піореї, тонзилітах, а також для лікування фурункулів, карбункулів та абсцесів. У сучасній фармацевтичній науці провідне місце посідають дослідження, пов'язані з впровадженням у медичну практику лікарських засобів рослинного походження, вивченням їхнього хімічного складу, стандартизацією, розробленням оптимальних технологій виготовлення фітопрепаратів. Тому об'єкти наших досліджень – настійки на основі ехінацеї пурпурової.

**Мета роботи** – вивчення та порівняльний аналіз компонентного складу настійок на основі ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) за допомогою газової хроматографії (ГХ).

**Матеріали та методи.** Для дослідження використали настійки кореневищ із коренями ехінацеї пурпурової: експериментальна, виготовлена за промисловою технологічною рецептурою (1:5, екстрагент – етанол 70 %) із сировини, що заготовлена в липні 2019 року на дослідній ділянці Запорізького державного медичного університету; контрольна – готова продукція ТОВ «Житомирська фармацевтична фабрика», серія 20319. Настійки досліджували на газовому хроматографі Agilent 7890В із мас-спектрометричним детектором 5977В. Для ідентифікації компонентів використана бібліотека мас-спектрів NIST14.

**Результати.** За допомогою ГХ у настійках кореневищ із коренями ехінацеї пурпурової ідентифікували 31 (експериментальна) та 23 (контрольна) компоненти. Результати дослідження свідчать, що якісний і кількісний хімічний склад настійок кореневищ із коренями ехінацеї пурпурової характеризується складністю та мінливістю. Це ускладнює процес стандартизації фітопрепаратів і може впливати на їхню ефективність і безпеку. Тому представники роду ехінацея мають стати об'єктами поглибленого хімічного вивчення.

**Висновки.** За допомогою ГХ вивчили та здійснили порівняльний аналіз компонентного складу настійок на основі ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). Метод ГХ придатний для визначення природних біологічно активних речовин у складі фітопрепаратів з ехінацеї, його можна використовувати під час розроблення методик стандартизації. Результати дослідження мають цінність для розроблення та вдосконалення аналітичної нормативної документації на сировину та фітопрепарати з ехінацеї пурпурової, а також можуть стати підґрунтям для створення нових субстанцій з імуномодулювальною активністю на основі підземних органів ехінацеї.

**Ключові слова:** газова хроматографія, ехінацея, компонентний склад, імуномодулювальна дія.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 275–281**

## Сравнительное хромато-масс-спектрометрическое исследование настоек на основе *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Ю. И. Корниевский, Д. Ю. Скорина, В. Г. Корниевская, Н. В. Кандыбей

Актуальной проблемой современности является распространение вторичных иммунодефицитов, связанных с повышенными стрессовыми нагрузками, урбанизацией и негативными изменениями в экологии, приводящими к нарушениям функционирования иммунной системы. Препараты, производимые на основе лекарственных растений, характеризуются более мягким действием, меньшей вероятностью развития привыкания и побочных эффектов, а также возможностью достаточно длительного применения. Эхинацея пурпурная (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), представитель семейства *Asteraceae*, – перспективное растение с иммуномодулирующим действием. Основными действующими веществами эхинацеи являются фенольные соединения, углеводы и алкаламины. Химический состав эхинацеи представлен также флавоноидами, дубильными веществами, сапонинами, высшими жирными кислотами, аминокислотами, бетаином, эфирным маслом, макро- и микроэлементами (Se, Co, Ag, Mo, Zn, Mg, K, Na, Fe и др.). Лекарственные препараты проявляют иммуностимулирующее, антиоксидантное, мембраностабилизирующее действие, способствуют заживлению ран, ожогов, язв; их применяют при инфекционных и вирусных заболеваниях, особенно верхних дыхательных путей. Традиционно их используют при фурункулёзе, септицемии (заражении крови), пиорее, тонзиллитах, а также для лечения фурункулов, карбункулов и абсцессов. В современной фармацевтической науке ведущее место занимают исследования, связанные с внедрением в медицинскую практику лекарственных средств растительного происхождения, изучением их химического состава, стандартизацией, разработкой оптимальных технологий изготовления фитопрепаратов. Именно поэтому объектами наших исследований стали настоек на основе эхинацеи пурпурной.

**Цель работы** – изучение и сравнительный анализ компонентного состава настоек на основе эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) с помощью газовой хроматографии (ГХ).

**Материалы и методы.** Для исследования использованы настоек кореневищ с корнями эхинацеи пурпурной: экспериментальная, изготовленная по промышленной технологической рецептуре (1:5, экстрагент – этанол 70 %) из сырья, заготовленного в июле 2019 года на опытном участке Запорожского государственного медицинского университета; контрольная – готовая продукция ООО «Житомирская фармацевтическая фабрика», серия 20319. Настоек исследовали на газовом хроматографі Agilent 7890В с масс-спектрометрическим детектором 5977В. Для идентификации компонентов использована библиотека масс-спектров NIST14.

**Результаты.** С помощью ГХ в настійках кореневищ с корнями эхинацеи пурпурной идентифицированы 31 (экспериментальная) и 23 (контрольная) компонента. Результаты исследования свидетельствуют, что качественный и количественный химический состав настоек кореневищ с корнями эхинацеи пурпурной характеризуется сложностью и изменчивостью. Этот факт усложняет процесс стандартизации фитопрепаратів и может влиять на их эффективность и безопасность. Поэтому представители рода эхинацея должны стать объектами углубленного химического изучения.

**Выводы.** С помощью ГХ изучен и проведен сравнительный анализ компонентного состава настоек на основе эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). Метод ГХ пригоден для определения природных биологически активных веществ в составе фитопрепаратів из эхинацеи и может быть использован при разработке методик их стандартизации. Результаты исследования имеют ценность для дальнейшей разработки и совершенствования аналитической нормативной документации на сырьё и фитопрепараты из эхинацеи пурпурной, а также могут стать основой для создания новых субстанцій с иммуномодулирующей активностью на основе подземных органов эхинацеи.

**Ключевые слова:** газовая хроматография, эхинацея, компонентный состав, иммуномодулирующее действие.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 275–281**



Today is the actual problem there is a spread of secondary immunodeficiencies, related to high-stress loads, urbanization, and negative changes in ecology, that lead to violations functioning immune system. These states inevitably need it to carry out immune correction. Use for this purpose synthetic drugs complicated a significant risk of developing unwanted reactions and usually low economic availability of such medicines for the population. In return, drugs, which are produced based on medicinal plants, are characteristic with softer action, less likely to get used to it and side effects, as well as the opportunity long enough application [1,2]. Therefore, in the practice of rehabilitation of persons with secondary immunodeficiency states, including as support for chemotherapy in cancer, it is advisable to use medicinal plants that have immunotropic effects [1,3,4].

The promising plant with immunomodulatory action is purple Echinacea (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), representative of the family *Asteraceae*. It is known that phytopreparations based on this plant exhibit immunostimulatory, antioxidant, membrane stabilizing, antiseptic action, and are capable of stimulating the central nervous system [4–10].

It is also important that in modern pharmaceutical science the leading place is occupied with the researches connected with the introduction into medical practice of herbal medicines, studying of their chemical composition, standardization, development of optimum technologies of production of herbal preparations. That is why tinctures based on purple Echinacea have become the object of our research [11].

## Aim

The purpose of the work is to study and comparative analysis of the component composition of tinctures based on purple Echinacea (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) using gas chromatography (GC).

## Materials and methods

Tinctures of rhizomes with purple Echinacea roots were used for the study:

1) experimental – manufactured according to an industrial, technological recipe (1:5, extractant – ethanol 70 %) from raw materials, which was harvested in July 2019 at the experimental site of the Zaporizhzhia State Medical University. The receipt of this tincture was carried out according to validated technology by the approved technological regulations. The main stages of production are reflected in the flow chart (Fig. 1);

2) control – finished products of LLC “Zhytomyr Pharmaceutical Factory”, series 20319.

The tinctures were examined on an Agilent 7890B gas chromatograph with a 5977B mass spectrometry detector. Chromatography conditions: DB-5ms column, 30 m long, with an internal diameter of 250 µm and a phase thickness of 0.25 µm. The carrier gas (helium) velocity is 1.3 ml/min. Injection volume – 0.5 µl. Flow split – 1:5. The temperature of the sample input block is 265 °C. Thermostat temperature:

programmable – 70 °C (holding 1 min), up to 150 °C at a speed of 20 °C/min (holding 1 min), up to 270 °C at a speed of 20 °C/min (holding 4 min). A NIST14 mass spectra library was used to identify the components.

## Results

In the analysis of the obtained chromatograms (Fig. 2, 3, Table 1) and the processing of the results of chromatographic mass spectrometry determination of tincture components on the basis of purple Echinacea *Echinacea purpurea* (L.) Moench, identified biologically active substances (BAS) belong to derivatives of: carboxylic acids (2, 15, 21, 22, 23); esters (4, 17, 26, 27, 34, 35); lactones (6); amides (18, 20, 25, 29); aldehydes (10); ketones (1, 3, 5, 9); glycosides (11); carbocyclic compounds (31, 33, 36); nitrogen-containing heterocycles (13, 14, 16, 19, 24); oxygen-containing heterocycles (7, 8, 28, 30, 32, 37); organosilicon compounds (12).

## Discussion

31 (experimental) and 23 (control) components were identified using GLC in tinctures of rhizomes with purple Echinacea roots. There were 9 components in the experimental tincture:

- 1) 17.291 Rt pyridine, 4-(3-mercapto-4-methyl-5-(4*H*-1,2,4-triazolyl)-, 12.14 %;
- 2) 10.503 Rt benzaldehyde, 2-hydroxy-6-methyl-, 7.11 %;
- 3) 12.948 Rt ethyl  $\alpha$ -*D*-glucopyranoside, 7.01 %;
- 4) 19.556 Rt *N*-(2-methylbutyl)undeca-(2*E*,4*Z*)-diene-8,10-diyamide, 4.60 %;
- 5) 3.51 Rt dihydroxyacetone, 4.15 %;
- 6) 6.53 Rt 4*H*-pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, 1.59 %;
- 7) 20.459 Rt 1*H*-indene, 2-butyl-3-hexyl-, 1.48 %;
- 8) 8.804 Rt 4-hydroxy-2-methylacetophenone, 1.15 %;
- 9) 22.805 Rt 9,12-octadecadienoic acid (*Z,Z*)-, 2,3-dihydroxypropyl-, 0.79 %.

The control tincture is dominated by 7 components:

- 1) 22.584 Rt  $\gamma$ -sitosterol, 17.62 %;
- 2) 17.999 Rt *cis*-vaccenic acid, 8.37 %;
- 3) 13.064 Rt 1,3,5-cycloheptatriene, 7,7-dimethyl-3-(trimethylsilyl)-, 8.17 %;
- 4) 10.524 Rt benzaldehyde, 2-hydroxy-6-methyl-, 7.8 %;
- 5) 3.423 Rt dihydroxyacetone, 2.77 %;
- 6) 7.521 Rt benzofuran, 2,3-dihydro-, 1.38 %;
- 7) 19.547 Rt 2*H*-pyran-2-one, 6-[2-*E*-(4-tolyl)ethenyl]-4-methoxy-, 1.27 %.

In the tinctures studied, there were 15 components in common, with only 2 components in quantitative terms: benzaldehyde, 2-hydroxy-6-methyl- (7.11 % and 7.80 %) and 2*H*-pyran-2-one, 6-[2-*E*-(4-tolyl)ethenyl]-4-methoxy- (1.59 % and 1.27 %).

The results of the study show that the qualitative and quantitative chemical composition of rhizomes with roots of purple Echinacea was characterized by complexity and variability. This fact complicates the standardization of herbal preparations and may affect their effectiveness and safety.

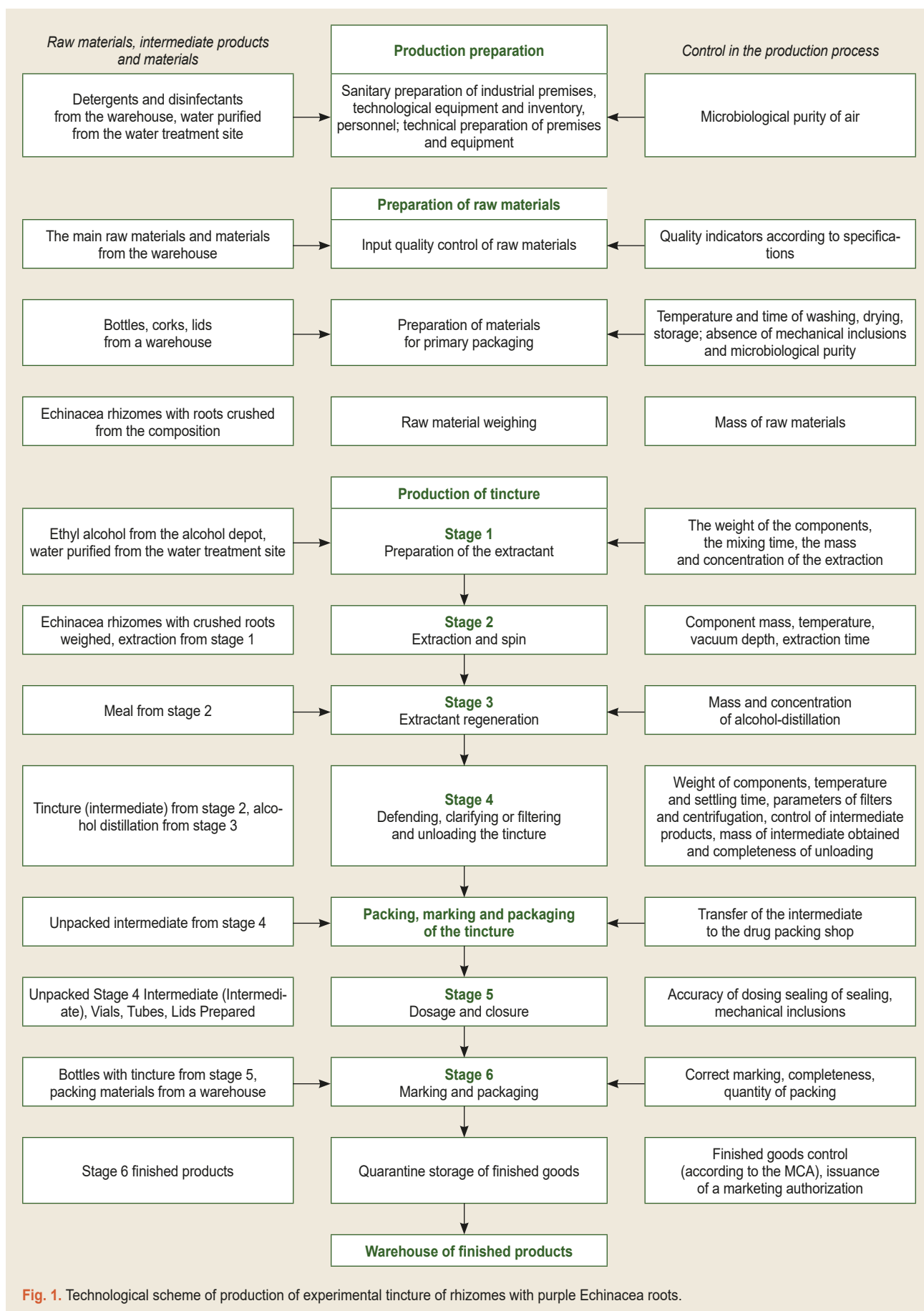
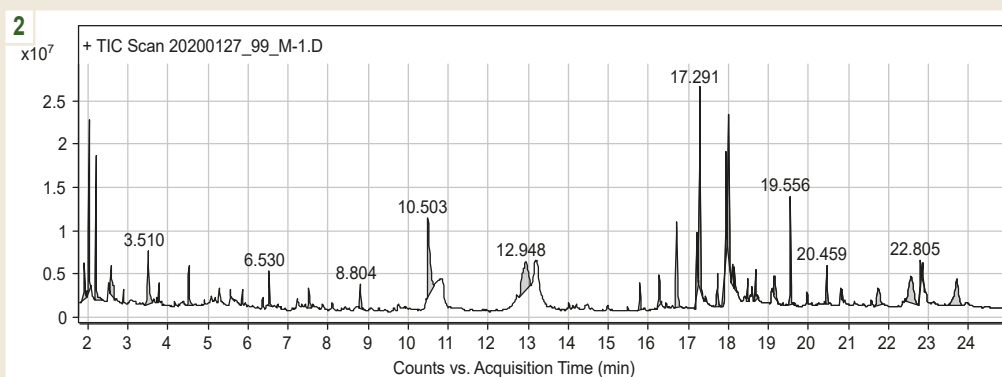
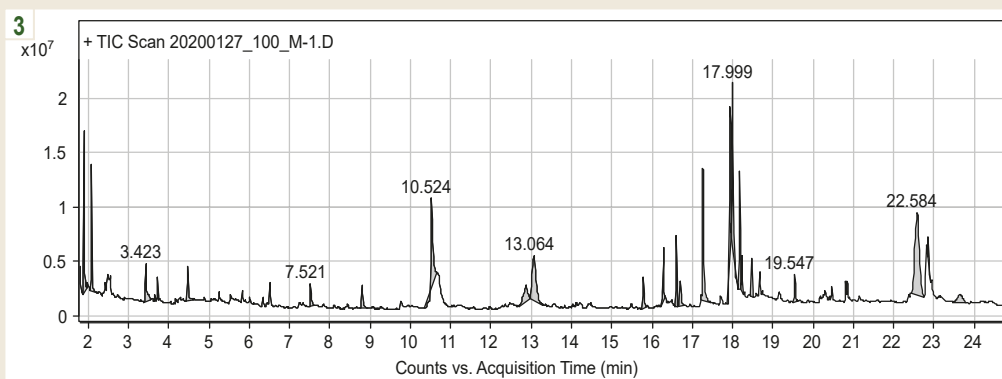


Fig. 1. Technological scheme of production of experimental tincture of rhizomes with purple Echinacea roots.



**Fig. 2.** Chromatogram of experimental tincture of rhizomes with purple *Echinacea* roots.



**Fig. 3.** Chromatogram of control tincture of rhizomes with purple *Echinacea* roots.

**Table 1.** Comparative chromatographic mass-spectrometric characteristics of tincture components based on purple *Echinacea* (*Echinacea purpurea* (L.) Moench)

No.	The name of the component	Gross formula	Tinctures of rhizomes with roots of purple <i>Echinacea</i>			
			Experimental		Control	
			Rt	Contents, %	Rt	Contents, %
1.	Acetone	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	1.906	1.65	–	–
2.	Acetic acid	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	2.022	5.73	1.89	5.31
3.	2-Propanone, 1-hydroxy	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	2.199	4.30	2.082	3.72
4.	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	2.584	2.42	–	–
5.	Dihydroxyacetone	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	3.51	4.15	3.423	2.77
6.	2-Hydroxy-γ-butyrolactone	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	4.524	2.24	4.467	1.74
7.	4 <i>H</i> -Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6 methyl-	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	6.53	1.59	–	–
8.	Benzofuran, 2,3-dihydro	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	7.523	0.94	7.521	1.38
9.	4-Hydroxy-2methyl acetophenone	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub>	8.804	1.15	8.804	1.43
10.	Benzaldehyde, 2-hydroxy-6-methyl-	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	10.503	7.11	10.524	7.80
11.	Ethyl α- <i>D</i> -glucopyranoside	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	12.948	0.01	12.869	2.98
12.	1,3,5-Cycloheptatriene, 7,7-dimethyl-3-(trimethylsilyl)-	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> Si	–	–	13.064	8.17
13.	4(1 <i>H</i> )-Quinazolinone, 2,3-dihydro-1,3-dimethyl-2-thioxo-	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S	–	–	15.787	1.54
14.	(1 <i>H</i> )-Quinolin-4-ol-2-one, 8-nitro-	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	15.787	1.23	–	–
15.	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	16.277	1.52	16.284	2.75
16.	1,2,4-Triazole, 3-mercapto-4-phenyl-5-methyl-	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> S	16.71	5.27	16.695	1.85
17.	Hexadecanoic acid, ethyl ester	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	–	–	16.598	2.7
18.	<i>N</i> -Isobutylundeca-(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-diene-8,10-diyamide	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO	17.218	1.93	–	–

Cont. of Table 1.

No.	The name of the component	Gross formula	Tinctures of rhizomes with roots of purple <i>Echinacea</i>			
			Experimental		Control	
			Rt	Contents, %	Rt	Contents, %
19.	Pyridine,4-(3-mercapto-4-methyl-5-(4H-1,2,4 triazolyl))-	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> S	17.291	12.14	17.267	9.20
20.	<i>N</i> -Isobutylundeca-(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-diene-8,10-diyamide	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO	17.731 18.106	1.91 0.86	–	–
21.	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	17.947	4.2	17.943	7.73
22.	<i>cis</i> -Vaccenic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	–	–	17.999	8.37
23.	9-Octadecenoic acid, ( <i>E</i> )-	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	18.004	8.01	–	–
24.	Dicyclooctanopyridazine	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub>	18.158	1.03	–	–
25.	<i>N</i> -Isobutyl-(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,10 <i>E</i> )-dodecatetraenamide	C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> NO	18.48 18.68	0.93 1.27	18.476	2.04
26.	Linoleic acid, ethyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	–	–	18.175	4.96
27.	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	–	–	18.233	1.29
28.	2 <i>H</i> -Pyran-2-one, 6-[2- <i>E</i> -(4-tolyl)ethenyl]-4-methoxy-	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	–	–	19.547	1.27
29.	<i>N</i> -(2-Methylbutyl)undeca-(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> )-diene-8,10 diynamide	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> NO	19.556	4.60	–	–
30.	2 <i>H</i> -Pyran-2-one, 6-[2- <i>E</i> -(4-tolyl)ethenyl]-4-methoxy-	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	–	–	19.547	1.27
31.	1 <i>H</i> -Indene, 2-butyl-3-hexyl-	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub>	20.459	1.48	–	–
32.	β-Tocopherol	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	21.743	2.14	–	–
33.	γ-Sitosterol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	22.564	5.28	22.584	17.62
34.	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> O	22.805	0.79	–	–
35.	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	22.856	0.85	22.856	1.35
36.	β-Amyrin	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	–	–	23.642	2.04
37.	<i>d,l</i> -α-Tocopherol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	23.705	4.65	–	–

Therefore, representatives of the genus *Echinacea* should be the object of further advanced chemical study.

## Conclusions

1. A comparative analysis of the component composition of tinctures based on purple *Echinacea* was studied and performed using GC (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). The GC method was suitable for the determination of natural BAS in the composition of *Echinacea* herbal preparations and can be used in the development of methods for their standardization.

2. In the experimental tincture of rhizomes with roots of purple *Echinacea* identified 31 components, and in the control – 23. The composition of the tinctures was characterized by complexity and variability. In the tinctures studied, 15 components were common, with only 2 components in quantitative terms.

3. The results of the study were of value for the further development and improvement of analytical regulatory documentation for raw materials and herbal preparations of purple *Echinacea*. They may also be the basis for the creation of new immunomodulatory substances based on the underground organs of *Echinacea*.

**Prospects for further research.** Tinctures based on *Echinacea purpurea* (L.) Moench can be considered as a basis for the creation of new substances with immunomodulatory activity based on the underground organs of *echinacea*.

## Funding

The work is part of the joint integrated work of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical University.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about authors:

Korniiievskiy Yu. I., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7863-6736](https://orcid.org/0000-0001-7863-6736)

Skoryna D. Yu., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-8851-8757](https://orcid.org/0000-0002-8851-8757)

Korniiievskaya V. H., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-8307-1282](https://orcid.org/0000-0001-8307-1282)

Kandybei N. V., PhD, Teaching Assistant of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Management and Organization of Pharmacy of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Відомості про авторів:**

Корнієвський Ю. І., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Скорина Д. Ю., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Корнієвська В. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Кандибей Н. В., канд. фарм. наук, асистент каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет; директор з якості, ПрАТ Фармацевтична фабрика «ВІОЛА», м. Запоріжжя, Україна.

**Сведения об авторах:**

Корниевский Ю. И., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Скорина Д. Ю., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Корниевская В. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кандыбей Н. В., канд. фарм. наук, ассистент каф. клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО, Запорожский государственный медицинский университет; директор по качеству ЧАО Фармацевтическая фабрика «ВІОЛА», г. Запорожье, Украина.

---

**References**

- [1] Kornievskiy, Yu. I., Panasenko, O. I., Kornievskaya, V. H., Fursa, M. S., Bohuslavskaya, N. Yu., Panchenko, V. V., & Kaplaushenko, A. H. (2012). *Zelena apteka* [Green pharmacy]. Zaporizhzhia: Karat. [in Ukrainian].
- [2] Kolesnyk, Yu. M., Kornievskiy, Yu. I., & Panasenko, O. I. (2013). *Liky Khortytsi* [Medicines of Khortytsia]. Zaporizhzhia: ZSMU. [in Ukrainian].
- [3] Kornievskiy, Yu. I., Bohuslavskaya, N. Yu., Kornievskaya, V. H., Bibyk, L. H., Panchenko, S. V., & Shevchenko, A. I. (2016). *Fitoterapiia v onkologii* [Phytotherapy in oncology]. Zaporizhzhia: ZSMU. [in Ukrainian].
- [4] Kryvenko, V. I., Kornievskiy, Yu. I., Kolesnyk, M. Yu., Pakhomova, S. P., Fedorova, O. P., Bohuslavskaya, N. Yu., Kornievskaya, V. H., & Panchenko, S. V. (2015). *Fitoterapiia v praktytsi simeinoho likaria* [Phytotherapy in the practice of a family doctor]. Zaporizhzhia: ZSMU, 2015. [in Ukrainian].
- [5] Kornievskiy, Yu. I., Rossikhin, V. V., Serbin A. H., Skoryna, D. Yu., Kornievskaya, V. H., & Bohuslavskaya, N. Yu. (2019). *Vitaminy v roslynnomu sviti* [Vitamins in the Flora]. Zaporizhzhia: ZSMU. [in Ukrainian].
- [6] Kornievskiy, Yu. I., Bohuslavskaya, N. Yu., Krut, Yu. Ya., Kornievskaya, V. H., Omelianchuk, L. O., & Lutsenko, N. S. (2014). *Fitoterapiia v akusherstvi ta hinekolohii* Zaporizhzhia: Karat. [in Ukrainian].
- [7] Kornievskiy, Yu. I., Kraidashenko, O. B., Krasko, M. P., Bohuslavskaya, N. Yu., Kornievskaya, V. H., & Opryshko, B. I. (2017). *Fitoterapiia v kardiologii* [Phytotherapy in cardiology]. Zaporizhzhia: ZSMU. [in Ukrainian].
- [8] Kolesnyk, Yu. M., Bachurin, H. V., Serbin, A. H., Kornievskiy, Yu. I., & Omelianchuk, L. O. (2014). *Fitoterapiia v urologii* [Phytotherapy in urology] Zaporizhzhia: ZSMU, 2014.
- [9] Manayi, A., Vazirian, M., & Saeidnia, S. (2015). *Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. Pharmacognosy reviews*, 9(17), 63-72. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156353>
- [10] Matthias, A., Banbury, L., Bone, K. M., Leach, D. N., & Lehmann, R. P. (2008). *Echinacea alkylamides modulate induced immune responses in T-cells. Fitoterapia*, 79(1), 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.07.012>
- [11] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2011). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. Dopovnennia 4* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (1st ed., Suppl. 4). Kharkiv: Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr. [in Ukrainian].





# Research of the chemical composition of *Artemisia tschernieviana* Bess. by gas chromatography method with mass detection

O. I. Panasenko<sup>id</sup>E,F, V. I. Mozul<sup>A,B,E</sup>, O. M. Denysenko<sup>A,B,E</sup>, I. I. Aksonova<sup>id</sup>\*C,D, V. V. Holovkin<sup>B,E</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**The aim** of the work was to study chromatographic-mass spectroscopic of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass and to establish possible prospects for the use of this plant in medical practice.

**Materials and methods.** *Artemisia tschernieviana* Bess. grass was chosen as the object of research. Raw materials were collected in July 2021 in the flowering phase (Zaporizhzhia). The tincture was obtained by maceration and the raw material was extracted with methyl alcohol at room temperature for 10 days according to the method of making tinctures. The study of the chemical composition of *Artemisia tschernieviana* Bess. Grass was carried out using gas chromatograph Agilent 7890B GC System (Agilent, Santa Clara, CA, USA) with mass spectrometric detector Agilent 5977 BGC/MSD (Agilent, Santa Clara, CA, USA) and chromatographic column DB-5ms (30 m × 250 μm × 0.25 μm).

**Results.** During the study it was found that the composition of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass includes 21 compounds (2 in the isomeric state). β-myrcene (17.22 %), sabinene (14.54 %), 2-(4a,8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a,7-hexahydronaphthalen-2-yl) propionic acid (11.57 %), 2-dodecen-1-yl-succinic anhydride (10.84 %) and chamazulene (9.02 %) accounted for the largest percentage.

According to the literature review, myrcene has antibacterial, anesthetic and analgesic effects. Sabinene is characterized by antibacterial action. 2-(4a,8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a,7-hexahydronaphthalen-2-yl)-propionic acid is a fatty acid with possible antibacterial and anti-inflammatory activity. 2-dodecen-1-yl-succinic anhydride is used to produce anhydride-modified form of insulin that can be used in the treatment of diabetes. Chamazulene has anti-inflammatory activity.

**Conclusions.** In view of all the above, we can conclude that *Artemisia tschernieviana* Bess. grass can be recommended for further research as a source of potential anti-inflammatory and antibacterial agents.

**Key words:** *Artemisia tschernieviana*, GS-MS, component composition, quantitative content, anti-inflammatory effect, antidiabetic effect, antibacterial effect.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 282–286**

## Дослідження хімічного складу *Artemisia tschernieviana* Bess. методом газової хроматографії з мас-детекцією

О. І. Панасенко, В. І. Мозуль, О. М. Денисенко, І. І. Аксьонова, В. В. Головкін

**Мета роботи** – визначення хімічного складу полину Черняєва трави, встановлення перспективності її дослідження як потенційного джерела лікарських засобів з антибактеріальною та протизапальною діями.

**Матеріали та методи.** Об'єкт дослідження – полину Черняєва трава. Сировину зібрали в липні 2021 року у фазу цвітіння (м. Запоріжжя). Настойку одержали методом мацерації, сировину екстрагували метиловим спиртом за кімнатної температури протягом 10 днів відповідно до методики виготовлення настоек. Хімічний склад настойки вивчали за допомогою газового хроматографа Agilent 7890B GC System (Agilent, Санта-Клара, Каліфорнія, США) з мас-спектрометричним детектором Agilent 5977 BGC/MSD (Agilent, Santa Clara, CA, США) та хроматографічної колонки DB-5ms (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм).

**Результати.** У результаті дослідження встановили, що полину Черняєва трава містить 21 сполуку (2 – в ізомерному стані). Найбільший відсоток становили β-мірцен (17,22 %), сабінен (14,54 %), 2-(4а,8-диметил-7-оксо-1,2,3,4,4а,7-гексагідронафтален-2-іл)-пропіонова кислота (11,57 %), 2-додіцен-1-іл-сукциновий ангідрид (10,84 %), хамазулен (9,02 %). Відомо, що мірцену притаманна антибактеріальна, знеболювальна та анагетична дії. Для сабінену характерна антибактеріальна дія. 2-(4а,8-диметил-7-оксо-1,2,3,4,4а,7-гексагідронафтален-2-іл)-пропіонова кислота – жирна кислота з можливою антибактеріальною та протизапальною активністю. 2-додіцен-1-іл-сукциновий ангідрид використовують для отримання ангідрид-модифікованої форми інсуліну, який можна застосовувати в терапії цукрового діабету. Хамазулен характеризується протизапальною дією.

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/242650>

UDC 615.322:582.998.16-119.2].074:543.544.3

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.242650](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.242650)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 282–286**

**Key words:** *Artemisia tschernieviana*, GS-MS, component composition, quantitative content, anti-inflammatory effect, antidiabetic effect, antibacterial effect.

\*E-mail: [bruttik2@gmail.com](mailto:bruttik2@gmail.com)

Received: 18.08.2021 // Revised: 13.09.2021 // Accepted: 22.09.2021

**Висновки.** Полыну Черныяева траву можна рекомендувати для наступних досліджень як потенційне джерело протизапальних та антибактеріальних засобів.

**Ключові слова:** *Artemisia tschernieviana*, GS-MS, компонентний склад, кількісний вміст, протизапальний ефект, протидіабетичний ефект, антибактеріальний ефект.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 282–286**

### Исследование химического состава *Artemisia tschernieviana* Bess. методом газовой хроматографии с масс-детекцией

А. И. Панасенко, В. И. Мозуль, О. Н. Денисенко, И. И. Аксёнова, В. В. Головкин

**Цель работы** – определение химического состава полыни Черныяева травы, установление перспективности её исследования как потенциального источника лекарственных средств с антибактериальным и противовоспалительным действиями.

**Материалы и методы.** Объект исследования – полыни Черныяева трава. Сырьё собрано в июле 2021 года в фазу цветения (г. Запорожье). Настойку получали методом мацерации, сырьё экстрагировали метиловым спиртом при комнатной температуре в течение 10 дней в соответствии с методикой изготовления настоек. Химический состав настойки изучили с помощью газового хроматографа Agilent 7890B GC System (Agilent, Санта-Клара, Калифорния, США) с масс-спектрометрическим детектором Agilent 5977 BGC/MSD (Agilent, Santa Clara, CA, США) и хроматографической колонки DB-5ms (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм).

**Результаты.** В ходе исследования установлено, что полыни Черныяева трава содержит 21 соединение (2 – в изомерном состоянии). Наибольший процент составили β-мирцен (17,22 %), сабинен (14,54 %), 2-(4а,8-диметил-7-оксо-1,2,3,4,4а,7-гексагидронафта-лен-2-ил)-пропионовая кислота (11,57 %), 2-додецен-1-ил-сукциновый ангидрид (10,84 %) и хамазулен (9,02 %).

Известно, что мирцен характеризуется антибактериальным, анестезирующим и анальгезирующим действиями. Сабинен проявляет антибактериальное действие. 2-(4а,8-диметил-7-оксо-1,2,3,4,4а,7-гексагидронафта-лен-2-ил)-пропионовая кислота – жирная кислота с вероятным антибактериальным и противовоспалительным эффектами. 2-додецен-1-ил-сукциновый ангидрид используют для получения ангидрид-модифицированной формы инсулина, который можно применять в терапии сахарного диабета. Хамазулен обладает противовоспалительным действием.

**Выводы.** Полыни Черныяева трава может быть рекомендована для дальнейших исследований как источник потенциальных противовоспалительных и антибактериальных средств.

**Ключевые слова:** *Artemisia tschernieviana*, GS-MS, компонентный состав, количественное содержание, противовоспалительный эффект, протидиабетический эффект, антибактериальный эффект.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 282–286**

The genus *Artemisia* is one of the largest and most common plants in the family *Asteraceae* [1,2]. It has more than 400 species that grow mainly throughout the northern hemisphere, in the temperate zone of Eurasia, in North and South Africa, North America [3]. There are 22 species on the territory of Ukraine. Representatives of the genus are mainly annual, biennial, and perennial herbaceous plants or shrubs, usually aromatic [4,5].

Many species of *Artemisia* are the subject of research by scientists from around the world. In particular, this is due to the complex chemical composition of these plants and the presence of a wide range of biological effects [6,7]. Thus, several scientists confirm the presence of cytotoxic and anti-tumor effects in some species of the genus [8]. For example, German scientists have confirmed the high effectiveness of *Artemisia annua* L. extract against breast cancer [9]. Pakistani researchers describe the presence of antitumor, cytotoxic, antimalarial, and antidiabetic effects in *Artemisia maritima* L. [10]. A wide range of biological action is characteristic of *Artemisia absinthium* L. Thus, there are data on its use as an antioxidant, antifungal, antimicrobial, anthelmintic, antiulcer, hepatoprotective, and analgesic [11]. A similar effect is characteristic of *Artemisia nilagirica* L. [12].

However, the further literature review revealed a lack of information on the chemical composition and use of *Artemisia tschernieviana* Bess. This confirms the feasibility and relevance of research in this area.

### Aim

The aim of the work was to study chromato-mass spectroscopic of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass and to establish possible prospects for the use of this plant in medical practice.

### Materials and methods

**Plant materials.** The object of the study was *Artemisia tschernieviana* Bess. grass. Raw materials were collected in July 2021 in the flowering phase (Zaporizhzhia, Ukraine).

**Extraction.** The tincture was obtained by maceration, and the raw material was extracted with methyl alcohol at room temperature for 10 days according to the method of making tinctures. 0.1 ml of the extract was placed in a 1 ml micro flask and made up to 0.5 ml with methanol [13].

**Equipment.** Qualitative and quantitative determination of active compounds was carried out at the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry (Head of the Department – Dr. hab., Professor O. I. Panasenko).

The completeness of the reactions and the individuality of the resulting compounds were controlled by the gas chromatograph Agilent 7890B with a 5977B mass spectrometry detector. The column is DB-5ms 30 m × 250 μm × 0.25 μm with length. The gas-carrier speed (helium) is 1.6 ml/min. Injection volume – 0.5 μl. Separation of the flow is 1:50.

**Table 1.** Qualitative and quantitative content of biologically active compounds of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass

Compound Label	RT	Area Sum %	DB Formula
Cpd 1: 2,2-Dimethoxybutane	1.971	1.86	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
Cpd 2: Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	4.117	14.54	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Cpd 3: .beta.-Myrcene	4.267	17.22	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Cpd 4: Linalool	5.761	2.46	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
Cpd 5: Caryophyllene	10.285	1.71	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Cpd 6: Galacto-heptulose	10.426	1.16	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>
Cpd 7: Benzene,[(tetramethylcyclopropylidene) methyl]-	12.815	6.62	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub>
Cpd 8: 3,6-Dihydrochamazulene	13.115	5.78	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub>
Cpd 9: (4R,4aR)-4,4a-Dimethyl-6-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,4,4a,7-hexahydronaphthalene	13.357	1.71	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>
Cpd 10: 1,4-Diacetyl-3-acetoxymethyl-2,5-methylene-l-rhamnitol	13.548	1.04	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub>
Cpd 11: Chamazulene	14.003	9.02	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub>
Cpd 12: (E)-1-(6,10-Dimethylundeca-5,9-dien-2-yl)-4-methylbenzene	16.788	1.46	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub>
Cpd 13: 2-(4a,8-Dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a,7-hexahydronaphthalen-2-yl)-propionic acid	17.357	11.57	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>
Cpd 14: Glabellin	17.428	1.64	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>
Cpd 15: Phytol	17.677	3.86	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O
*Cpd 16: 2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	18.358	2.04	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>
Cpd 17: .alpha.-Santonin	18.596	0.92	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>
Cpd 18: Longifolenaldehyde	18.658	1.91	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
*Cpd 19: 2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	18.785	8.80	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>
Cpd 20: 14-Formol-9-hydroxyarteether	19.006	1.67	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>7</sub>
*Cpd 21: Anthracen-1(2H)-one, 3,4-dihydro-8,9,10-trihydroxy-	19.185	1.01	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>
*Cpd 22: Anthracen-1(2H)-one, 3,4-dihydro-8,9,10-trihydroxy-	19.514	1.04	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>
Cpd 23: 17-Pentatriacontene	22.816	0.97	C <sub>35</sub> H <sub>70</sub>

\*: these compounds are probably isomers.

The temperature of the sampling unit is 230 °C → 12 °C/s → 275 °C. Thermostat temperature: programmable, 240 °C (1 minute delay) → 5 °C/min → 280 °C (delay 1 min). The total time of examination is 10 min. Temperature of interface GS/MS – 280 °C; ion sources – 230 °C; quadrupole mass analyzer – 150 °C. Type of ionization: EI with an electron energy of 70 eV. The range of mass numbers that was scanned: 30–500 m/z.

## Results

According to the results of the study, 21 compounds were identified (2 in the isomeric state) (Table 1).

Regarding chemical analysis, the largest percentage was β-myrcene (17.22 %), sabinene (14.54 %), 2-(4a, 8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7-hexahydronaphthalene-2-yl)-propionic acid (11.57 %), 2-dodecen-1-yl-succinic anhydride (10.84 %) and chamazulene (9.02 %). Of the total content, terpenes were accounted for 59.06 %, aromatic compounds – 11.84 %, fatty acid derivatives – 11.57 %, organic acid derivatives – 10.84 %, hydrocarbons – 2.83 %, sugars – 2.2 %, ester – 1.67 %.

The chromatogram of *Artemisia tschernieviana* Bess. tincture identified the following compounds: β-myrcene (RT = 4.267), 2-(4a, 8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7-hexahydronaphthalen-2-yl)-propionic acid (RT = 17.357), 2-dodecen-1-yl-succinic anhydride (RT = 18.785) (Fig. 1).

## Discussion

According to the literature review, myrcene has antibacterial, anesthetic, and analgesic effects. American scientists have studied the analgesic effect of a mixture of cannabinoids and myrcene and concluded on the prospects of their joint use [14].

Sabinene is characterized by antibacterial action [15].

2-(4a, 8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7-hexahydronaphthalen-2-yl)-propionic acid is a derivative of propionic acid, which is the lowest fatty acid. According to the literature, propionic acid and its derivatives have antibacterial and anti-inflammatory activity [16].

2-dodecen-1-yl-succinic anhydride is used to produce the anhydride-modified form of insulin that can be used in the treatment of diabetes [17].

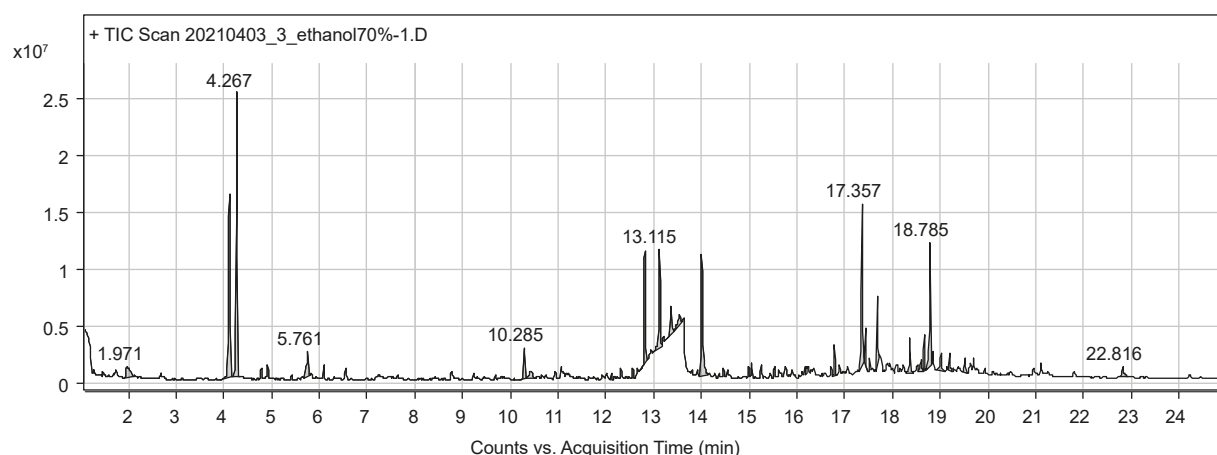


Fig. 1. Chromatogram of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass.

Hamazulene is known as an anti-inflammatory agent [18] and may be included in the treatment of osteoarthritis [19].

In view of all the above, we can conclude that wormwood Chernyaeva grass can be recommended for further research as a source of potential anti-inflammatory and antibacterial agents.

## Conclusions

1. For the first time with the help of GS/MS was established the chemical composition of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass.

2. During the study of raw materials, 21 (2 in the isomeric state) biologically active compounds were identified.

3. The main components were  $\beta$ -myrcene (17.22 %), sabinene (14.54 %), 2-(4a, 8-dimethyl-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7-hexahydronaphthalen-2-yl)-propionic acid (11.57 %), -dodecen-1-yl-succinic anhydride (10.84 %), and chamazulene (9.02 %).

4. The obtained results testify to the prospects of further research of *Artemisia tschernieviana* Bess. grass as a potential source of drugs with antibacterial and anti-inflammatory action.

**Prospects for further research.** *Artemisia tschernieviana* Bess. grass can be used as a source of potential drugs with antibacterial and anti-inflammatory effects.

## Funding

The work is part of the joint integrated work of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical University.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about authors:

Panasenko O. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-6102-3455](https://orcid.org/0000-0002-6102-3455)

Mozul V. I., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Denysenko O. M., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Aksonova I. I., PhD, Teaching Assistant of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-3534-700X](https://orcid.org/0000-0002-3534-700X)

Holovkin V. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Мозуль В. І., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Денисенко О. М., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Аксьонова І. І., канд. фарм. наук, асистент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Головкін В. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Панасенко А. И., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Мозуль В. И., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Денисенко О. Н., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Аксёнова И. И., канд. фарм. наук, ассистент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Головкин В. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.



References

- [1] Genus Artemisia (n.d.). *Plantarium*. Retrieved from <https://www.plantarium.ru/lang/en/page/view/item/42391.html>
- [2] Rod Polyn' – Artemisia L. (n.d.). *Megabook. Megaentsiklopediya Kirilla i Mefodija*. Retrieved from <https://megabook.ru/article/%d0%a0%d0%be%d0%b4%20%d0%bf%d0%be%d0%b%d1%8b%d0%bd%d1%8c%20%e2%80%93%20Artemisia%20L.>
- [3] Artemisia – The Plant List (n.d.). *The Plant List*. Retrieved from <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Compositae/Artemisia/>
- [4] Zanousi, M. B. P., Nekoei, M., & Mohammadhosseini, M. (2017). Chemical Compositions of the Essential Oils from Stems, Leaves and Fruits of Artemisia tschernieviana and Exploring Quantitative Structure-Retention Relationships (QSRRs) for Prediction of Corresponding Retention Indices. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(3), 672-687.
- [5] Mohammadhosseini, M. (2017). Essential oils extracted using microwave-assisted hydrodistillation from aerial parts of eleven Artemisia species: Chemical compositions and diversities in different geographical regions of Iran. *Records of Natural Products*, 11(2), 114-129. [https://www.acgpubs.org/doc/2018080513061416-RNP-EO\\_1602-010.pdf](https://www.acgpubs.org/doc/2018080513061416-RNP-EO_1602-010.pdf)
- [6] Vagabova, F. A., Aliev, A. M., Radjabov, G. K., & Musaeva, A. M. (2018). Sravnitel'noe izuchenie komponentnogo sostava efirnogo masla Artemisia splendens Willd. i Artemisia tschernieviana Bess. flory Dagestana [Comparative study of the component composition of Artemisia splendens Willd essential oil and Artemisia tschernieviana Bess. flora of Dagestan]. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii*, (1), 17-24. [in Russian]. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-01-04>
- [7] Nigam, M., Atanassova, M., Mishra, A. P., Pezzani, R., Devkota, H. P., Plygun, S., Salehi, B., Setzer, W. N., & Sharifi-Rad, J. (2019). Bioactive Compounds and Health Benefits of Artemisia Species. *Natural Product Communications*, 14(7), 1-17. <https://doi.org/10.1177/1934578X19850354>
- [8] Taleghani, A., Emami, S. A., & Tayarani-Najaran, Z. (2020). Artemisia: a promising plant for the treatment of cancer. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(1), 115180. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115180>
- [9] Lang, S. J., Schmiech, M., Hafner, S., Paetz, C., Steinborn, C., Huber, R., Gaafary, M. E., Werner, K., Schmidt, C. Q., Syrovets, T. & Simmet, T. (2019). Antitumor activity of an Artemisia annua herbal preparation and identification of active ingredients. *Phytomedicine*, 62, 152962. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152962>
- [10] Shahzadi, I., Abdullah, Mehmood, F., Ali, Z., Ahmed, I., & Mirza, B. (2020). Chloroplast genome sequences of Artemisia maritima and Artemisia absinthium: Comparative analyses, mutational hotspots in genus Artemisia and phylogeny in family Asteraceae. *Genomics*, 112(2), 1454-1463. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.08.016>
- [11] Batiha, G. E., Olatunde, A., El-Mleeh, A., Hetta, H. F., Al-Rejaie, S., Alghamdi, S., Zahoor, M., Magdy Beshbishy, A., Murata, T., Zaragoza-Bastida, A., & Rivero-Perez, N. (2020). Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*, 9(6), 353. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060353>
- [12] Mohanty, B., Puri, S., & Kesavan, V. (2018). A Review on Therapeutic Potential of Artemisia nilagirica. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, 6(01). <https://doi.org/10.4172/2329-9029.1000205>
- [13] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2008, February 1). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy. Dopovnennia 2* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (1st ed., Suppl. 1). Kharkiv: Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr. [in Ukrainian].
- [14] Jansen, C., Shimoda, L., Kawakami, J. K., Ang, L., Bacani, A. J., Baker, J. D., Badowski, C., Speck, M., Stokes, A. J., Small-Howard, A. L., & Turner, H. (2019). Myrcene and terpene regulation of TRPV1. *Channels*, 13(1), 344-366. <https://doi.org/10.1080/19336950.2019.1654347>
- [15] Ngbolua, K. N., Moke, E. L., Baya, J. L., Djoza, R. D., Ashande, C. M., & Mpiana, P. T. (2017). A mini-review on the pharmacognosy and phytochemistry of a tropical medicinal plant: Annona senegalensis Pers. (Annonaceae). *Tropical Plant Research*, 4(1), 168-175. <https://doi.org/10.22271/tpr.2017.v4.i1.024>
- [16] Eş, I., Khaneghah, A. M., Hashemi, S. M., & Koubaa, M. (2017). Current advances in biological production of propionic acid. *Biotechnology Letters*, 39, 635-645. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2293-6>
- [17] Chinisaz, M., Ebrahim-Habibi, A., Dehpour, A. R., Yaghmaei, P., Parivar, K., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2017). Structure and function of anhydride-modified forms of human insulin: In silico, in vitro and in vivo studies. *European journal of pharmaceutical sciences*, 96, 342-350. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.09.030>
- [18] Misyri, V., Tsekouras, V., Iliopoulos, V., Mavrikou, S., Evergetis, E., Moschopoulou, G., Kintzios, S., & Haroutounian, S. A. (2021). Farm or lab? Chamazulene content of Artemisia arborescens (Vill.) L. essential oil and callus volatile metabolites isolate. *Industrial Crops and Products*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113114>
- [19] Ma, D., He, J., & He, D. (2020). Chamazulene reverses osteoarthritic inflammation through regulation of matrix metalloproteinases (MMPs) and NF-κβ pathway in in-vitro and in-vivo models. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 84(2), 402-410. <https://doi.org/10.1080/009168451.2019.1682511>





## Study of flavonoids and phenolic acids in green tea leaves

O. Yu. Maslov<sup>ID</sup>\*A,B,C,D, S. V. Kolisnyk<sup>ID</sup>A,E,F, M. A. Komisarenko<sup>ID</sup>C,E, E. Yu. Akhmedov<sup>ID</sup>E,  
S. M. Poluian<sup>ID</sup>E, Z. V. Shovkova<sup>ID</sup>E

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article;  
E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**The aim of work** is study qualitative composition and quantitative content of flavonoids and phenolic acids in green tea leaves.

**Material and methods.** The object of the study was green tea leaves, which were collected in Anhui Province, China. The analysis of 60 % ethanolic extract from green tea leaves was performed by high-performance liquid chromatography using a Prominence LC-20 Shimadzu chromatographic system (Japan) with an SPD-20AV spectrophotometric detector, an Agilent Technologies Microsorb-MV-150 column (reversed-phase, C18 modified silica gel, length – 250 mm, diameter – 4.6 mm, particles size – 5 µm). Identification of substances in the extract was carried out by comparing the retention time and the spectral characteristics of the test substances with the same characteristics of the reference standards.

**Results.** 13 compounds were identified and determined by high-performance liquid chromatography. Among flavonoid aglycones quantitatively dominated by quercetin (0.35 %), in the case of flavonoid glycosides, it was luteolin-6-C-glycoside (1.30 %) and among phenolic acids, it was gallic acid (5.21 %).

**Conclusions.** The qualitative composition, quantitative content of flavonoids and phenolic acids in the green tea leaves were determined by high-performance liquid chromatography. According to HPLC, the content of flavonoids in green tea leaves was higher than the content of phenolic acids.

**Key words:** green tea, leaves, flavonoids, phenolic acids, high-performance liquid chromatography.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 287–291**

### Дослідження флавоноїдів і фенолокіслот у зеленого чаю листі

О. Ю. Маслов, С. В. Колісник, М. А. Комісаренко, Е. Ю. Ахмедов, С. М. Полуян, З. В. Шовкова

**Мета роботи** – визначити якісний склад і кількісний уміст флавоноїдів і фенолокіслот у зеленого чаю листі.

**Матеріали та методи.** Об'єкт дослідження – зеленого чаю листя, що зібране в провінції Аньхой, КНР. Аналіз 60 % спиртової витяжки зеленого чаю листя здійснили методом високоефективної рідинної хроматографії за допомогою хроматографічної системи Prominence LC-20 Shimadzu (Японія) зі спектрофотометричним детектором SPD-20AV, колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150 (C18 модифікований силікагель, довжина – 250 мм, діаметр – 4,6 мм, розмір зерен сорбенту – 5 мкм). Ідентифікацію речовин у витяжці виконали шляхом порівняння часу утримання та спектральних характеристик речовин, що досліджували, зі стандартами.

**Результати.** У зеленого чаю листі ідентифікували 13 сполук, визначили їхній кількісний уміст. Серед агліконів флавоноїдів кількісно переважав кверцетин (0,35 %), а з-поміж глікозидів флавоноїдів – лутеолін-6-С-глюкозид (1,30 %). Із фенольних кислот основна сполука – галова кислота (5,21 %).

**Висновки.** Встановили якісний склад і кількісний уміст флавоноїдів, фенольних кислот у зеленого чаю листі методом високоефективної рідинної хроматографії. Вміст флавоноїдів у зеленого чаю листі перевищував такий для фенольних кислот.

**Ключові слова:** зелений чай, листя, флавоноїди, фенолокіслоти, високоефективна рідинна хроматографія.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 287–291**

### Исследование флавоноидов и фенолокіслот в зелёного чая листьях

А. Ю. Маслов, С. В. Колесник, Н. А. Комиссаренко, Э. Ю. Ахмедов, С. М. Полуян, З. В. Шовковая

**Цель работы** – определение качественного состава и количественного содержания флавоноидов и фенолокіслот в зелёного чая листьях.

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/240287>

UDC 615.322:582.687.21:581.45].07:543.544.5.068.7

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.240287](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.240287)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 287–291**

**Key words:** green tea, leaves, flavonoids, phenolic acids, high-performance liquid chromatography.

\*E-mail: [alexmaslov392@gmail.com](mailto:alexmaslov392@gmail.com)

Received: 20.09.2021 // Revised: 08.10.2021 // Accepted: 11.10.2021

**Материалы и методы.** Объект исследования – зелёного чая листья, собранные в провинции Аньхой, КНР. Анализ 60 % спиртовой вытяжки зелёного чая листьев провели методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью хроматографической системы Prominence LC-20 Shimadzu (Япония) со спектрофотометрическим детектором SPD-20AV, колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150 (C18 модифицированный силикагель, длина – 250 мм, диаметр – 4,6 мм, размер зёрен сорбента – 5 мкм). Вещества в вытяжке идентифицировали путём сравнения времени удерживания и спектральных характеристик исследуемых веществ со стандартами.

**Результаты.** В зелёного чая листьях идентифицировали 13 соединений, определили их количественное содержание методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Среди агликонов флавоноидов количественно преобладал кверцетин (0,35 %), а из гликозидов флавоноидов – лутеолин-6-С-гликозид (1,30 %). Среди фенольных кислот доминирующее соединение – галловая кислота (5,21 %).

**Выводы.** Определили качественный состав и количественное содержание флавоноидов и фенольных кислот в зелёного чая листьях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание флавоноидов в зелёного чая листьях превышало содержание фенольных кислот.

**Ключевые слова:** зелёный чай, листья, флавоноиды, фенолокислоты, высокоэффективная жидкостная хроматография.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 287–291**

Tea (*Camellia sinensis* L.) is originated in China, dates back several thousand years. Tea composition varies with climate, season, tea variety, age of the leaf and horticultural practices [1]. A lot of epidemiological and preclinical studies have demonstrated that drinking tea may reduce the risk of cancer and cardiovascular disease [2,3].

Green tea leaves contain numerous bioactive compounds, among which catechins or flavan-3-ols are the most thoroughly investigated. Nevertheless, not only flavan-3-ols are contained in green tea leaves. Tea is rich in aglycones and glycosides of flavanols, flavanones, flavones, and phenolic acids [4,5]. Available scientific studies indicate that seven flavone glycosides were determined in leaves by high-performance liquid chromatography (HPLC), five apigenin compounds (apigenin-6,8-C-diglucoside, apigenin-6-C-glucoside-8-C-arabinoside, apigenin-6-C-arabinoside-8-C-glucoside, apigenin-8-C-glucoside, and apigenin-6-C-glucoside) as well as two luteolin compounds (luteolin-6-C-glucoside and luteolin-8-C-glucoside). In this study, the total amount of flavone glycosides was between 0.48 g/kg and 2.69 g/kg [6].

Literature shows that flavonols in tea are mainly present in the form of mono-, di-, and triglycosides as well as kaempferol, myricetin, and quercetin have been detected in several studies [7,8]. The total content of flavanols can be in the range of 1.0 % to 4.0 % in dry green tea leaves [9]. Moreover, several scientific research have reported about flavanones in the composition of green tea leaves [10,11]. Phenolic acids are represented by theogallin, gallic, ferulic, cinnamic acids, as well as the total amount of phenolic acid and its derivatives, which is in the range from 0.1–2.0 % in dry material [12].

## Aim

The aim of the study is determined qualitative composition and quantitative content of flavonoids and phenolic acids in green tea leaves.

## Materials and methods

The object of the study was green tea leaves, which were collected in Anhui Province, China.

Caffeic, gallic, ferulic, cinnamic acids, myricetin-3-O-glycoside, quercetin, quercetin-3-O-rutenoside, naringenin, naringin, hesperidin, hesperetin, luteolin-6-C-glycoside, apigenin-8-C-glycoside were purchased from Sigma-Aldrich. The methanol was HPLC grade and other chemicals were analytical grade.

A Prominence LC-20 Shimadzu liquid chromatography system equipped with a Thermo Scientific Synchronis aQC18 column (4.6 × 250) was employed for analyses. All determinations were undertaken at 40 °C. Mobile phases included an aqueous solution of methanol (A) and 1.0 % phosphoric acid solution (B). Gradients of 20–42 % A for 0–15 min, 42–43 % A for 15–25 min, 43–90 % A for 25–45 min, keeping 90 % A for 45–55 min, decreasing to 20 % A for 55–60 min, and keeping 20 % A for 60–70 were used. The mobile phases were filtered (25 mm × 0.45 μm, Supelco Iso-Disc Filters PTFE 25-4) and degassed prior to use, and a flow rate of 0.5 mL/min was employed. The sample injection volume was 5 μL and the detection was carried out at 255 nm, 286 nm, 350 nm.

The analysis of plant samples is quite complicated as above all, the plant matrices are often very complex, and identify each substance is impossible, in addition, some standards of substances are very costly. That is why the method of similarity indices was used to provide the analysis. The similarity indices are calculated according to the following formulas [13]:

$$I_T = 1 - |T_{st} - T_u|$$

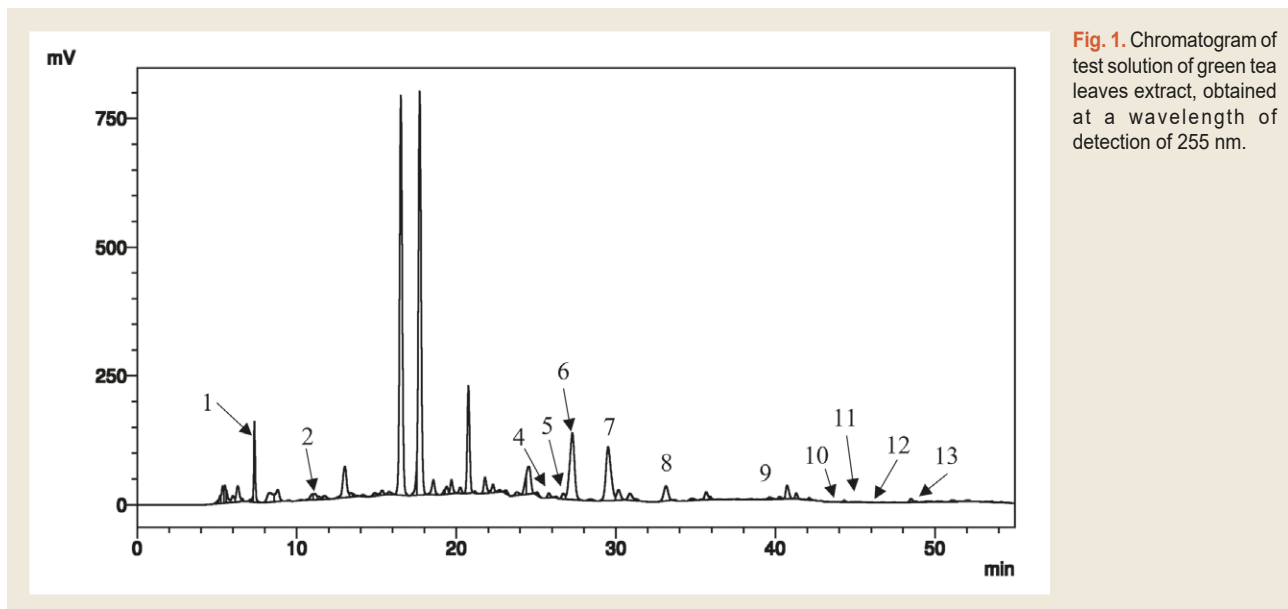
$$I_{255} = 1 - |h_{255st} - h_{255u}|$$

$$I_{286} = 1 - |h_{286st} - h_{286u}|$$

$$I_{350} = 1 - |h_{350st} - h_{350u}|$$

where  $I_T$  – retention time similarity index;  $T_{st}$  – retention time of standard (min);  $T_u$  – test substance retention time (min);  $I_{255}$ ,  $I_{286}$  and  $I_{350}$  – spectral similarity indices,  $h_{255st}$ ,  $h_{286st}$  and  $h_{350st}$  – spectral characteristics of the standard;  $h_{255u}$ ,  $h_{286u}$  and  $h_{350u}$  – spectral characteristics of the test substance.

The spectral characteristic of substance is the ratio of the peak height of chosen wavelength 255 nm, 268 nm, and 350 nm to the peak height of test substance at 225 nm [14]. For identification analyzed substance the index similarly is chosen among three, which has the lowest value. In order to



**Fig. 1.** Chromatogram of test solution of green tea leaves extract, obtained at a wavelength of detection of 255 nm.

identify the chromatographic peaks, the value of the similarity index must be greater than 0.7, if it is not so this peak is unidentified. Some peaks can be outside of the flavonoid range it indicates that this substance is not a flavonoid structure and it can be sorted out to unidentified [15].

Extraction of green tea leaves was made according to the following procedure: 1.0 g of crushed raw material was extracted by 60 % ethanol in a ratio of 1:20 using method maceration. The resulting extract was filtered through a filter. The raw material was extracted twice with new portions of the solvent, after that the extracts were combined.

Statistical analysis was performed in Microsoft Excel 2010 with the accepted significance level  $\alpha = 0.05$ . Results were expressed as mean  $\pm$  confident interval from five measurements.

## Results

The figure shows a chromatogram of green tea extract. Detection of the substance's peaks was provided by a UV detector at a wavelength of 255 nm. 120 peaks were identified, which were analyzed by indices of similarity to the standards, 21 peaks were included in the group of unidentified. The chromatogram shows the main peaks, the numbers of which coincide with the numbers of those identified compounds in *Table 1*. According to the described previously procedure that is based on high similarity indices with standard substances  $I_T$  and  $I_L$ , 6 flavonoid glycosides were identified quercetin-3-O-rutenoside, kaempherol-7-O-glycoside, myricetin-3-O-glycoside, hesperidin, luteolin-6-C-glycoside, apigenin-8-C-glycoside as well as 3 flavonoid aglycones – quercetin, naringenin, hesperetin (*Table 1*).

In our research, the number of flavonoid glycosides was: luteolin-6-C-glycoside (1.30 %), hesperidin (1.19 %), apigenin-8-C-glycoside (0.98 %), myricetin-3-O-glycoside (0.86 %), quercetin-3-O-rutenoside (0.62 %), kaempherol-7-O-glycoside (0.51 %), as well as the total content of flavonoid glycosides in green tea leaves was found 5.46 %

**Table 1.** Identification of substances in the test solution of green tea leaves extract, the peaks of which are indicated in *Fig. 1*.

Number of peak on <i>Fig. 1</i>	Retention time, min	Similarity index, $I_L$	Identification
1	8.815	0.826	gallic acid
2	14.850	0.921	hesperidin
3	22.295	0.816	apigenin-8-C-glycoside
4	24.372	0.859	myricetin-3-O-glycoside
5	25.801	0.863	caffeic acid
6	27.275	0.988	kaempherol-7-O-glycoside
7	29.915	0.943	quercetin-3-O-rutenoside
8	33.147	0.888	luteolin-6-C-glycoside
9	40.327	0.527	cinnamic acid
10	40.727	0.760	quercetin
11	40.977	0.725	naringenin
12	41.788	0.928	hesperetin
13	45.681	0.793	ferulic acid

(*Table 2*). The total amount of flavonoid aglycones and glycosides was 0.41 % and 5.46 %, respectively. The phenolic acids were represented by gallic acid (5.21 %), caffeic acid (0.16 %), cinnamic acid (0.02 %), and ferulic acid (0.01 %). The total content of phenolic acids was 5.39 % in dry raw material.

## Discussion

In scientific research [16] it was estimated that the amount of myricetin-3-O-glycoside was 0.083–0.159 %, quercetin-3-O-rutenoside was 0.15–0.48 %, kaempherol-7-O-glycoside was 0.16–0.33 % and quercetin was 0.10–0.50 % in dry material. In this study the content of quercetin-3-O-rutenoside was the greatest. The available research [17] shows

**Table 2.** The content of flavonoid glycosides in extract green tea leaves by HPLC-UV

Glycoside	Content, % in dry raw material
kaempferol-7-O-glycoside	0.17 ± 0.01
quercetin-3-O-rutenoside	9.35 ± 0.19
myricetin-3-O-glycoside	2.15 ± 0.04
apigenin-8-C-glycoside	2.45 ± 0.05
hesperidin	1.98 ± 0.04
luteolin-6-C-glycoside	3.25 ± 0.06
Total flavonoid glycoside	19.35

**Table 3.** The content of flavonoid aglycones in extract green tea leaves by HPLC-UV

Aglycone	Content, % in dry raw material
quercetin	0.35 ± 0.005
naringenin	0.02 ± 0.001
hesperitin	0.04 ± 0.001
Total flavonoid aglycone	0.41

**Table 4.** The content of phenolic acids in extract green tea leaves by HPLC-UV

Phenolic acid	Content, % in dry raw material
Gallic acid	5.210 ± 0.052
Caffeic acid	0.160 ± 0.002
Cinnamic acid	0.020 ± 0.001
Ferulic acid	0.010 ± 0.001
Total phenolic acids	5.39

that the content of naringenin was 0.01–0.11 %, hesperitin was 0.01–0.07 %, hesperidin was 0.31–0.81 %. The previous investigation [18] represents the gallic acid was in the range from 2.0 % to 6.0 %.

According to results, the luteolin-6-C-glycoside had the highest concentration among other glycosides. The major constituent among aglycones was quercetin, whereas other aglycones were present at the lowest level (Table 3). Obtained results indicated that flavonoid glycosides were predominated in green tea leaves.

The main compound of phenolic acids was gallic acid, the high concentration among others can be explained by the releasing gallic acid from gallaylated catechin-derived species (Table 4). Compared results represent that analyzed green tea leaves are accumulated more flavonoids than phenolic acids.

The differences in results of research can be related with sample preparation method, since different brewing times, ratio leaves/extractant were used, species of tea, climate and geographical position. This work is a contribution for the chemical composition of green tea leaves. Moreover, obtained data can be used further for standardization green tea leaves.

## Conclusions

1. The qualitative composition, quantitative content of flavonoids and phenolic acids green tea leaves were determined by high-performance liquid chromatography.

2. According to HPLC, the content of flavonoids in green tea leaves was higher than the content of phenolic acids.

**Prospects for further research.** The obtained data on the composition of phenolic acids and flavonoids of green tea leaves will be used for further standardization of the obtained extract and indicate the possibility of creating phytopreparations and food additives on the extract.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about authors:

Maslov O. Yu., Assistant of the Department of Analytical Chemistry and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. ORCID ID: [0000-0001-9256-0934](https://orcid.org/0000-0001-9256-0934)

Kolisnyk S. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Analytical Chemistry and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-4920-6064](https://orcid.org/0000-0002-4920-6064)

Komisarenko M. A., PhD, Assistant of the Department of Pharmacognosy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-1161-8151](https://orcid.org/0000-0002-1161-8151)

Akhmedov E. Yu., PhD, Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6727-8259](https://orcid.org/0000-0001-6727-8259)

Poluian S. M., PhD, Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-9942-9258](https://orcid.org/0000-0002-9942-9258)

Shovkova Z. V., PhD, Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-1908-1237](https://orcid.org/0000-0003-1908-1237)

## Відомості про авторів:

Маслов О. Ю., асистент каф. аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Колісник С. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Комісаренко М. А., канд. фарм. наук, асистент каф. фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Ахмедов Е. Ю., канд. фарм. наук, доцент каф. аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Полуян С. М., канд. фарм. наук, доцент каф. аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Шовкова З. В., канд. фарм. наук, доцент каф. аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

## Сведения об авторах:

Маслов А. Ю., ассистент каф. аналитической химии и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Колесник С. В., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. аналитической химии и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Комиссаренко Н. А., канд. фарм. наук, ассистент каф. фармакогнозии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.



Ахмедов Э. Ю., канд. фарм. наук, доцент каф. аналитической химии и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Полуян С. М., канд. фарм. наук, доцент каф. аналитической химии и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Шовковая З. В., канд. фарм. наук, доцент каф. аналитической химии и аналитической токсикологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

## References

- [1] Jiang, H., Engelhardt, U. H., Thräne, C., Maiwald, B., & Stark, J. (2015). Determination of flavonol glycosides in green tea, oolong tea and black tea by UHPLC compared to HPLC. *Food chemistry*, 183, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.024>
- [2] Hu, B., Wang, L., Zhou, B., Zhang, X., Sun, Y., Ye, H., Zhao, L., Hu, Q., Wang, G., & Zeng, X. (2009). Efficient procedure for isolating methylated catechins from green tea and effective simultaneous analysis of ten catechins, three purine alkaloids, and gallic acid in tea by high-performance liquid chromatography with diode array detection. *Journal of chromatography. A*, 1216(15), 3223-3231. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.02.020>
- [3] Namal Senanayake, S. P. J. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1529-1541. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.011>
- [4] Zhang, L., Cao, Q. Q., Granato, D., Xu, Y. Q., & Ho, C. T. (2020). Association between chemistry and taste of tea: A review. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.015>
- [5] Farris, P. K. (2013). *Cosmeceuticals and Cosmetic Practice*. Wiley & Sons, Incorporated, John: New York.
- [6] Engelhardt, U. H. (2013). *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier: Amsterdam.
- [7] Basaveswara Rao, M. V., Prasanthi, V., Rao, G. V., & Raman, B. V. (2012). Development and Validation of New RP-HPLC Method for the Determination of Dexrazoxane. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 74(6), 588-591. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.110627>
- [8] Jeganathan, B., Punyasiri, P. A., Kottawa-Arachchi, J. D., Ranatunga, M. A., Abeyasinghe, I. S., Gunasekare, M. T., & Bandara, B. M. (2016). Genetic Variation of Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in the Sri Lankan Tea (*Camellia sinensis* L.) and Their Health-Promoting Aspects. *International journal of food science*, 2016, 6057434. <https://doi.org/10.1155/2016/6057434>
- [9] Miean, K. H., & Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 3106-3112. <https://doi.org/10.1021/jf000892m>
- [10] Yashin, A. Y., Nemzer, B. V., Combet, E., & Yashin, Y. I. (2015). Determination of the Chemical Composition of Tea by Chromatographic Methods: A Review. *Journal of Food Research*, 4(3), 56. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n3p56>
- [11] Yin, D. D., Yuan, R. Y., Wu, Q., Li, S. S., Shao, S., Xu, Y. J., Hao, X. H., & Wang, L. S. (2015). Assessment of flavonoids and volatile compounds in tea infusions of water lily flowers and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 187, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.032>
- [12] Karamac, M., Kosinska, A., & Pegg, R. (2006). Content of gallic acid in selected plant extracts. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 15(1), 55-58.
- [13] Khodakov, I. V. (2013). Sposob identifikatsii polifenolov v rastitel'nykh ekstraktakh pri pomoshchi VEZhKh. Opredelenie sostava izo-flavonov soi [The HPLC method of identification of polyphenols in plant extracts by example of determination of isoflavone composition in soy seeds]. *Metody i ob'ekty khimicheskogo analiza*, 8(3), 132-142. [in Russian].
- [14] Huat Law, K., & Patmanatha Das, N. (1987). Dual-wavelength absorbance ratio and spectrum scanning techniques for identification of flavonoids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 388(C), 225-233. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94482-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94482-6)
- [15] Sychev, S. N., & Gavrilina, V. A. (2013). Vysokoeffektivnaya zhidkostnaya khromatografiya. Analitika, fizicheskaya khimiya, raspoznavanie mnogokomponentnykh system [High performance liquid chromatography: analytics, physical chemistry, multicomponent system recognition]. Saint-Petersburg: Lan'. [in Russian].
- [16] Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96(4), 597-605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.015>
- [17] Zeng, L., Luo, L., Li, H., & Liu, R. (2017). Phytochemical profiles and antioxidant activity of 27 cultivars of tea. *International journal of food sciences and nutrition*, 68(5), 525-537. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1263834>
- [18] Jeszka-Skowron, M., Krawczyk, M., & Zgoła-Grześkowiak, A. (2015). Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.015>





## Мікроскопічні діагностичні ознаки представників родини бобові. Повідомлення II. Провідна система

О. В. Гречана<sup>1,A,D</sup>, А. Г. Сербін<sup>2,E,F</sup>, А. М. Рудник<sup>1,B</sup>, О. О. Салій<sup>3,C</sup>

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна, <sup>3</sup>Київський національний університет технологій та дизайну, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Світовий ринок рослинних продуктів швидко розширюється, і торгівля ними має тенденцію до зростання на 15–25 % щорічно. Пропорційно збільшується кількість повідомлень про випадкове забруднення або навмисну, економічно мотивовану фальсифікацію рослинної сировини. За даними фахової літератури, з майже 6000 препаратів рослинного походження, що продаються у 37 країнах, 27 % містять незадекларовані забруднення, заміники або інші компоненти. Здійснили мікроскопічний аналіз провідної системи для визначення морфоанатомічних характеристик окремих представників роду конюшина (*Trifolium* L.), *Fabaceae* L. Конюшина має протизапальні, антисептичні, жовчогінні, потогінні, сечогінні, кровоспинні, відхаркувальні, в'яжучі властивості, її застосовують під час лікування багатьох захворювань.

**Мета роботи** – вивчення будови провідної системи листків і стебел представників роду *Trifolium* L. для виявлення спільних ознак і тих, що різняться та можуть бути використані як діагностичні.

**Матеріали та методи.** Рослинний матеріал (траву) конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.), м'ясочервоної (*T. incarnatum* L.), повзучої (*T. repens* L.) та суничної (*T. fragiferum* L.) заготовляли в період активного цвітіння рослини (травень – червень), сушили в добре провітрюваному приміщенні. Препарати листків і стебел попередньо розварювали у 5 % водному розчині натрію гідроксиду та фіксували в розчині хлоралгідрату. Поперечні зрізи робили мікротомом. Застосовували світловий мікроскоп БІОЛАМ ЛОМО (РФ), результати фіксували цифровою фотокамерою OLYMPUS SH-21 для ідентифікації провідного апарату листка, черешка та стебла.

**Результати.** Вивчаючи будову центральної жилки листків конюшини лучної та суничної, виявили: провідна система, вкрита кристаломорфною обкладкою, являла собою один закритий колатеральний пучок у центрі; це не властиве дводольним рослинам. Черешки листка конюшини м'ясочервоної, суничної та повзучої на поперечному зрізі мали різні форми – ниркоподібну та округлу. Провідні пучки у м'ясочервоної і повзучій конюшині розташовані колом, а сунична мала безпучковий тип будови. Пучки закритого типу, колатеральні, що суперечить відомостям про будову провідної системи дводольних рослин. У стеблах рослин провідні пучки – відкриті колатеральні.

**Висновки.** Під час пошуку диференційних ознак в окремих представників роду *Trifolium* L. упродовж фармакогностичного аналізу звернули увагу на особливості будови провідної системи центральної жилки та черешка листків об'єктів дослідження: конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.), м'ясочервоної (*T. incarnatum* L.), повзучої (*T. repens* L.) та суничної (*T. fragiferum* L.). Для представників дводольних рослин не характерні провідні пучки закритого типу, виявлені під час мікроскопічного дослідження.

**Ключові слова:** мікроскопія, тотожність, рослинна сировина, провідна система.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 292–298**

### The microscopic diagnostic signs of some *Fabaceae* L. genus representatives. Message II. Plant conducting system

O. V. Grechana, A. H. Serbin, A. M. Rudnyk, O. O. Saliy

The world plant products market is expanded rapidly and trade in them tends to grow by 15–25 % annually. The number of reports is increased proportionally about accidental contamination or deliberate, economically motivated falsification of plant raw materials. 27 % of the nearly 6.000 herbal preparations that are sold in 37 countries have contained undeclared contaminants, substitutes, or other components, according to the literature. We have conducted a plant conduction system microscopic analysis of the individual members' genus Clover (*Trifolium* L.), *Fabaceae* L. to identify morphoanatomical characteristics. Clover has anti-inflammatory, antiseptic, choleric, diaphoretic, diuretic, hemostatic, expectorant, astringent properties and is used in many diseases.

**Aim.** The finding common features and those that differ and can be used as diagnostic during studying the conducting system structure of genus *Trifolium* L. leaves and stems.

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/234470>

UDC 615.322:582.736.3].086.3

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.234470](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.234470)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 292–298

**Key words:** microscopy, identity, raw materials, conducting plant system.

\*E-mail: [1310grechanaya@ukr.net](mailto:1310grechanaya@ukr.net)

Received: 11.06.2021 // Revised: 29.06.2021 // Прийнято до друку / Accepted: 30.06.2021

**Materials and methods.** Plant material (herb) from *Trifolium pratense* L., *T. incarnatum* L., *T. repens* L. and *T. fragiferum* L. was harvested during the active flowering period – (May – June) and was dried in a well-ventilated place. Leaves and stems preparations were pre-boiled in 5 % sodium hydroxide water solution and fixed in chloral hydrate solution. Cross-sections were made with a microtome. The BIOLAM LOMO light microscope (Russia) and OLYMPUS SH-21 digital camera were used to record the data about identify the conducting apparatus of the plant's leaf, petiole, and stem.

**Results.** It has been examined the central vein structure of *T. pratense* L. and *T. fragiferum* L. leaves, it was determined that the conductive system is covered with a crystalline coating and there is one closed collateral bundle in the center, which is not typical for dicotyledonous plants. The petioles of *T. incarnatum* L., *T. fragiferum* L., and *T. repens* L. in cross-section are several different shapes. There are kidney-shaped and round. The conducting apparatus *T. incarnatum* L. and *T. repens* L. have arranged in a circle, closed and collateral. The leafstalk structure type of *T. fragiferum* L. is bunches. It contradicts too the information about the structure conducting system of dicotyledonous plants. The stem's conducting bundles are collateral and open.

**Conclusions.** We have paid attention to the structural peculiarities of the conductive system of the central vein and petiole of objects for study: *Trifolium pratense* L., *T. incarnatum* L., *T. repens* L., and *T. fragiferum* L. when searching for differentiating features in some members of the genus *Trifoliae* L. in pharmacognostic analysis. The Dicotyledonae representatives are not characteristic of the closed type of conductive bundles, which we observed during microscopic examination.

**Key words:** microscopy, identity, raw materials, conducting plant system.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 292–298**

## Микроскопические диагностические признаки некоторых представителей семейства бобовых. Сообщение II. Проводящая система

Е. В. Гречаная, А. Г. Сербин, А. М. Рудник, Е. А. Салий

Мировой рынок растительных продуктов быстро расширяется, и торговля ими имеет тенденцию к росту на 15–25 % ежегодно. Пропорционально увеличивается количество сообщений о случайных загрязнениях или преднамеренных, экономически мотивированных фальсификациях растительного сырья. По данным научной литературы, из почти 6000 препаратов растительного происхождения, которые продаются в 37 странах, 27 % содержат незадекларированные загрязнения, заменители или другие компоненты. Проведен микроскопический анализ проводящей системы для установления морфоанатомических характеристик отдельных представителей рода клевер (*Trifoliae* L.), *Fabaceae* L. Клевер проявляет противовоспалительные, антисептические, желчегонные, потогонные, кровоостанавливающие, отхаркивающие, вяжущие свойства, его применяют при лечении многих заболеваний.

**Цель работы** – изучение строения проводящей системы листьев и стеблей представителей рода *Trifolium* L. для выявления общих признаков и отличий, которые могут быть использованы как диагностические.

**Материалы и методы.** Растительный материал (траву) клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), мясокрасного (*T. incarnatum* L.), ползучего (*T. repens* L.) и земляничного (*T. fragiferum* L.) заготавливали в период активного цветения растения (май – июнь), сушили в хорошо проветриваемом помещении. Препараты листьев и стеблей предварительно разваривали в 5 % водном растворе натрия гидроксида и фиксировали в растворе хлоралгидрата. Поперечные срезы делали микроотомом. Использовали световой микроскоп БИОЛАМ ЛОМО (РФ), полученные данные фиксировали цифровой фотокамерой OLYMPUS SH-21 для идентификации проводящего аппарата листка, черенка и стебля.

**Результаты.** Во время изучения строения центральной жилки листьев клевера лугового и земляничного установили: проводящая система, покрытая кристаллоносной обкладкой, представляла собой один закрытый коллатеральный пучок в центре; это не характерно для двудольных растений. Черенки листков клевера мясокрасного, земляничного и ползучего на поперечном срезе имели разные формы – почковидную и округлую. Проводящие пучки в клевере мясокрасном и ползучем расположены кругом, а земляничного имел безпучковый тип строения. Пучки закрытого типа, коллатеральные, что противоречит сведениям научной литературы о строении проводящей системы двудольных растений. В стеблях растений проводящие пучки – открытые коллатеральные.

**Выводы.** При поиске дифференцирующих признаков у некоторых представителей рода *Trifoliae* L. в ходе фармакогностического анализа выявлены особенности строения проводящей системы центральной жилки и черешка листков объектов исследования: клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), мясокрасного (*T. incarnatum* L.), ползучего (*T. repens* L.) и земляничного (*T. fragiferum* L.). Для представителей двудольных растений не характерны проводящие пучки закрытого типа, которые обнаружили при микроскопическом исследовании.

**Ключевые слова:** микроскопия, идентификация, растительное сырьё, проводящая система.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 292–298**

Фітотерапія – одна з найдавніших форм лікування, її вважають одним із попередників сучасного фармацевтичного бізнесу. Терапевтичні властивості лікарських рослин використовують багато років під час лікування багатьох захворювань із варіюванням сьогодні від рослин для виробництва фармацевтичних препаратів до рослин-складових фітопрепаратів.

За останні десятиліття використання рослинних лікарських засобів і харчових добавок рослинного походження надзвичайно зросло, і чимала частка населення світу покладається на них як на елемент первинної медико-санітарної допомоги. Світовий ринок рослинних продуктів швидко розширюється, і торгівля ними має тенденцію до зростання на 15–25 % щорічно. Пропорційно збільшу-

ється кількість повідомлень про випадкове забруднення або навмисну, економічно мотивовану фальсифікацію рослинної сировини. За даними фахової літератури, з майже 6000 препаратів рослинного походження, що продаються у 37 країнах, 27 % містять незадекларовані забруднення, замінники або інші види наповнювачів [1–3]. З цієї причини рослинні інгредієнти необхідно точно ідентифікувати макро- та мікроскопічно, порівнюючи з аутентичним матеріалом або точним описом справжніх рослин. Це важливо, щоб рослинні інгредієнти називалися біноміальними латинськими назвами роду, виду тільки з використанням дозволених синонімів. Навіть якщо така відповідність дотримана, є імовірність виявити відмінності різних партій рослинної сировини, що пов'язані з впливом низки факторів:

1) міжвидові або внутрішньовидові варіації при генетичному контролі варіацій у складі, пов'язані з країною походження сировини;

2) кількість інгредієнтів у рослинній сировині варіює під впливом факторів довкілля (клімат, висота та інші умови культивування);

3) концентрації компонентів у рослині можуть змінюватися протягом циклу вирощування або навіть упродовж доби, слід наводити оптимальний час заготівлі;

4) різні частини рослини здатні накопичувати різні активні компоненти, що зазвичай відрізняються в частинах рослини; ба більше, «виснажений» рослинний матеріал, що раніше екстрагували, іноді додають для збільшення ваги партії рослинної сировини;

5) умови зберігання та обробки можуть впливати на якість рослинної сировини. Невідповідне зберігання після заготівлі може призвести до мікробного забруднення, а невідповідність сушіння може спричинити втрату термолабільних активних інгредієнтів [4].

Широке використання, доступність рослинних ліків викликали занепокоєння щодо їхньої якості, ефективності та безпеки. У цьому аспекті першочергове значення для забезпечення якості має правильність ідентифікації видів, оскільки тільки малий відсоток традиційної сировини вирощують у культурі, майже всю сировину отримують із природних рослинних насаджень. Отже, є висока ймовірність помилкової ідентифікації або заміни [5,6].

Мікроскопія як швидкий та економічно ефективний метод дає змогу впоратися з сумішами, домішками, її давно використовують для ідентифікації рослинної сировини в багатьох країнах, про що свідчать багато фармакопей. Переваги методу – невеликий об'єм проби, швидкість, надійність, простота, низькі витрати. Мікроскопічні характеристики можна використовувати для перевірки справжності рослинної сировини, виявлення забруднень, фальсифікацій і підмін під час аналізу структурних, клітинних, молекулярних особливостей лікарських рослин. Підробка продуктів рослинного походження заважає і науковим дослідженням, і застосуванню як засобів лікування [7–9].

Нині здійснюють активне фітохімічне дослідження представників роду конюшина. Так, описано викори-

стання конюшини лучної в Індії для лікування опіків, бронхітів, як седативного засобу. Є досвід використання *Trifolium pratense* L. при синдромі полікістозу яєчників. Виявили також антимікробну дію сапонінових фракцій, екстрагованих із сировини *T. alexandrinum*, *T. incarnatum*, *T. resupinatum* var. *resupinatum*. Вивчили 88 видів конюшини на вміст ціаногенних глікозидів [10].

Як об'єкт вивчення обрали провідні тканини рослин, що є складними або комплексними транспортними системами, складаються з морфологічно та функціонально різнорідних елементів, характерних для судинних рослин (*Tracheophyta*). Маючи подібне походження (одна меристема), ксилема і флоема розташовуються поряд і складаються з окремих судин, трубок, що з'єднані між собою для поєднання полюсів асиміляції судинних аутоτροφних рослин. Провідні тканини в органах рослин розташовуються не ізольовано, а зібрані у відповідні групи – судинно-волоконні пучки, де на певних етапах розвитку з'являється вторинна твірна тканина камбій і вторинні провідні тканини (вторинна ксилема та вторинна флоема); тоді говорять про відкритий провідний пучок, характерний для дводольних рослин. Однодольні рослини такої особливості не мають, тому визначають провідний пучок закритого типу [11]. У цьому дослідженні зробили спробу мікроскопічного аналізу провідної системи для виявлення морфоанатомічних характеристик окремих представників роду конюшина (*Trifoliae* L.) родини бобових *Fabaceae* L. [12,13].

Родина Бобові (*Fabaceae* або *Leguminosae*) – друга найбільша родина серед квіткових рослин, вона складається з 600–700 родів і 12000–17000 видів однорічних і багаторічних трав, напівкущів, ліан, рідше дерев (передусім тропічних) [14,15]. На території пострадянських держав налічують понад 60 родів і 1800 видів цієї родини [10].

Рід конюшина включає 230 видів, що поширені в помірних і субтропічних районах, крім Австралії. Представлений однорічними та багаторічними травами зі здерев'янілим кореневищем і мичкуватою кореневою системою. Стебла – висхідні, рідше прямостійні, зрідка повзучі або сланкі, іноді дерев'яніють біля основи.

Листя здебільшого пальчастотрійчасті, іноді пальчасті, зрідка лапаті або складені з чотирьох листочків; прилистки прирослі до черешка, листкоподібні або пливчасті, між собою більш-менш зрослі.

Квітки різних видів червоні, білі, рідше різноколірні, невеликі або навіть дрібні, зібрані у верхівкові або пазушні, головчасті (зонтик, китиця або поодинокі квітки трапляються часто) суцвіття, прикриті (особливо на початку розвитку) одним чи двома верхніми листками (утворюють свого роду поволоку). Чашечка – дзвоникоподібна або трубчаста, правильна чи певною мірою двогуба, з 5 зубчиками або надрізами; пелюстки мають довгі нігтики, чотири нижніх часто зростаються з тичинковою трубкою. Будова квітки – за метеликовим типом: прапорець завжди вільний, видовжений або яйцеподібний із вузькими крилами; човник коротший за крила, тупий. Із 10 тичинок 9 зростаються нитками

у трубку, верхня залишається вільною. Зав'язь коротка, сидяча, часто розташовується на ніжці, складається з 2–6 насінневих бруньок.

Після цвітання всохлий віночок не опадає, огортає довгастий, майже циліндричний або плаский обернено-яйцеподібний дрібний шкірястий плід – біб з однією або двома насінинами, що пізно розкриваються, а іноді залишаються нерозкритими. Дрібні насінини майже кулястої або трохи видовженої форми.

Фаза цвітіння триває з травня до вересня, зазвичай дуже довго.

Конюшина має протизапальні, антисептичні, жовчогінні, потогінні, сечогінні, кровоспинні, відхаркувальні, в'язучі властивості, її застосовують під час лікування багатьох захворювань.

Конюшину вживають всередину як відвар, а також роблять примочки. Ця рослина допомагає полегшити запальні процеси в організмі, очистити кров, зменшити набряки та вивести зайву рідину з організму, допомагає при простудних захворюваннях, головному болю, атеросклерозі. Примочки з конюшини можна використовувати при ранах, опіках, шкірних захворюваннях.

## Мета роботи

Вивчення будови провідної системи листків і стебел представників роду *Trifolium* L. для виявлення спільних ознак і тих, що різняться та можуть бути використані як діагностичні.

## Матеріали і методи дослідження

Рослинний матеріал (траву) конюшини лучної (*Trifolium pratense* L.), м'ясочервоної (*Trifolium incarnatum* L.), повзучої (*Trifolium repens* L.) та суничної (*Trifolium fragiferum* L.) заготовляли в період активного цвітіння рослини (травень – червень) неподалік Запоріжжя (село Приморське – 47°37'11" пн. ш.; 35°17'29" сх. д., середня висота над рівнем моря – 73 м). Після попереднього пров'ялювання на сонці сировину досушували під накриттям або в приміщенні, котре добре провітрювалося.

Відповідність видів підтверджено на кафедрі ботаніки Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (завідувач кафедри, зберігач гербарію – доцент Ю. Г. Гамуля).

Для мікроскопічного аналізу використовували препарати листків і стебел, попередньо розварених у 5 % водному розчині натрію гідроксиду та фіксованих у розчині хлоралгідрату для знебарвлення жорстких структур клітин. Поперечні зрізи робили мікротомом. Для роботи використовували світловий мікроскоп БІОЛАМ ЛОМО (РФ) при збільшенні у 80, 120, 160, 400, 600 і 800 разів. Результати фіксували цифровою фотокамерою OLYMPUS SH-21. Фотографії опрацювали за допомогою програми Adobe Photoshop CS3.

На препаратах ідентифікували тип провідного апарату листя, зон стебла тощо.

## Результати

Поперечний зріз центральної жилки листка конюшини лучної під час мікроскопічного дослідження дає змогу виявити характерну особливість – наявність кристалоносної обкладки (рис. 1.1). У центрі розташований великий закритий провідний пучок (рис. 1.2).

Жилка листка конюшини суничної округлої форми, значно опукла з нижнього боку листка. Під епідермою – основна паренхіма, клітини якої округлі, мають тонкі оболонки. В центрі жилки розташований один великий закритий колатеральний пучок. У жилці з нижнього боку листка є кристалоносна обкладинка, що утворена поодинокими кристалами кальцію оксалату.

У конюшини м'ясочервоної черешок листка на поперечному зрізі має ниркоподібну форму. Епідерма черешка утворена паренхімними 4–5-кутними клітинами з потовщеними оболонками та щільним опушенням. Під епідермою розміщена основна паренхіма, що складається з тонкостінних паренхімних клітин. Провідна система представлена 5 закритими колатеральними пучками, з них 3 більші, з одношаровою склеренхімною обкладинкою.

Черешок листка конюшини повзучої на поперечному зрізі має ниркоподібну форму, без опушення. Під епідермою розташовані 1–2 шари кутової коленхіми. Провідна система черешка складається з 5 закритих колатеральних провідних пучків, із них 3 більші. У пучках над флоемою знаходиться склеренхімна обкладинка. Клітини основної паренхіми округлі, тонкостінні, ближче до центру – більші за розмірами.

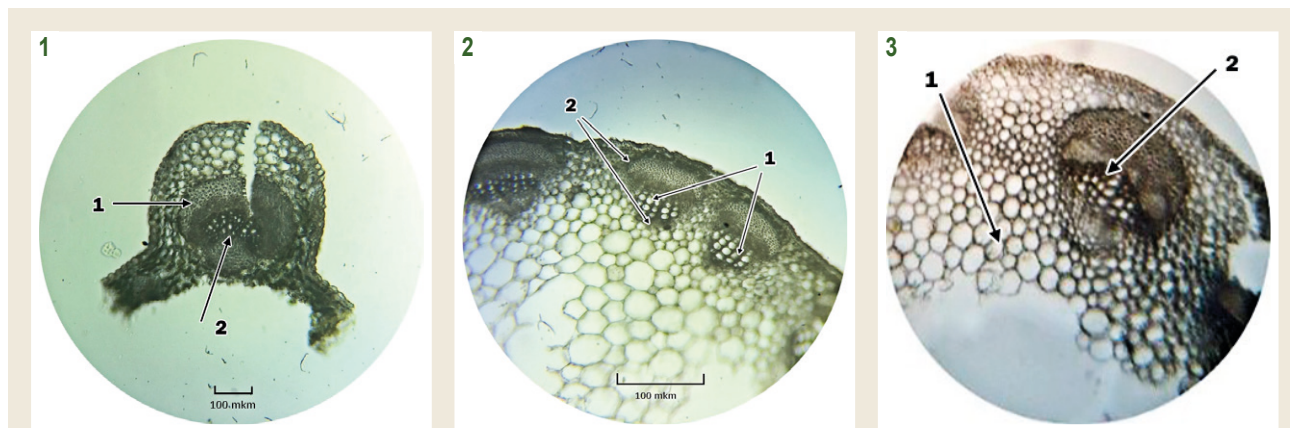
Листок конюшини суничної має черешок округлої форми, вкритий покривною тканиною – епідермою, і представлений паренхімними, прямостінними клітинами з потовщеними оболонками. Під епідермою розташована основна паренхіма, що складається з округлих паренхімних тонкостінних клітин. У центрі знаходиться 1 закритий колатеральний пучок.

Стебло конюшини лучної на поперечному зрізі має округлу форму, ребра ледь виступають (рис. 2). Центральний осьовий циліндр має пучковий тип будови (рис. 2.1). Пучки відкриті колатеральні, розташовані по колу. У пучках з боку флоєми міститься склеренхімна обкладка (рис. 2.2).

Стебло конюшини м'ясочервоної округлої форми. Епідерма стебла складається з 4-кутних паренхімних клітин із потовщеними оболонками. Опушення щільне, утворене волосками, які є на верхній і нижній епідермі листка. Під епідермою – 4–5 шарів основної паренхіми. Центральний осьовий циліндр – безпучкового типу будови. У стеблі над флоемою розташовані невеликі ділянки склеренхіми. Серцевина виражена, виповнена округлими тонкостінними клітинами основної паренхіми, які ближче до ксилеми містять запасні речовини.

На поперечному зрізі стебло конюшини повзучої ребристе. Епідерма стебла представлена видовженими паренхімними чи прозенхімними 4-, рідше 5-кутними клітинами з ледь потовщеними оболонками. Під епідермою стебла в ребрах є 4–5 шарів кутової коленхіми,





**Рис. 1.** Центральна жилка листка конюшини лучної. 1: кристалоносна обкладка; 2: великий закритий провідний пучок.

**Рис. 2.** Стебло конюшини лучної. 1: центральний осьовий циліндр пучкового типу; 2: склеренхімна обкладка.

**Рис. 3.** Стебло конюшини суничної. 1: основна паренхіма; 2: відкриті колатеральні пучки.

між ребрами – 1–2 шари. Нижче розташована коро́ва паренхіма, що складається з дрібних округлих клітин із тонкими оболонками. Провідна система стебла представлена відкритими колатеральними пучками, в яких із боку флоєми чітко виражена 4–5-шарова склеренхімна обкладка. Пучки розміщені навпроти ребер стебла. Серцевина чітко виражена, утворена паренхімними, тонкостінними клітинами. У деяких стеблах вона може мати невелику порожнину в центрі.

Стебло конюшини суничної округлої форми (рис. 3). Клітини епідерми видовжені, паренхімні або прозенхімні з тонкими оболонками. Продихи трапляються часто. Опущення стебла немає. Під епідермою стебла знаходиться основна паренхіма (рис. 3.1), що представлена округлими тонкостінними клітинами. Центральний осьовий циліндр – пучкового типу (рис. 3.2). Пучки відкриті колатеральні, великі.

### Обговорення

Провідна система представників роду конюшина виконує певні функції, під час мікроскопічного дослідження схожа за загальною будовою. Аналізуючи будову центральної жилки листка (зразки конюшини лучної та суничної), виявили закриті колатеральні пучки, що не є характерною ознакою дводольних рослин, до яких належать об'єкти дослідження.

Протягом мікроскопічного аналізу черешків листків звертали увагу на провідні пучки, що, всупереч загальновідомим даним, закриті (немає прошарку камбію між флоємою та ксилемою, а отже і вторинних флоєми та ксилеми в пучку також немає). Черешки листків різні за формою: ниркоподібна форма притаманна конюшині м'ясочерво́ній і повзучій. У конюшини суничної черешок має округлу форму з тонкостінними клітинами основної паренхіми, виявили різницю за розташуванням провідних пучків та їхньою кількістю. У черешку листка конюшини повзучої та м'ясочерво́ній є п'ять пучків, що

розташовані колом, і три з них більші за розмірами. В обох видів є склеренхімна обкладка. В суничній конюшині провідна система черешка листка відрізняється за розташуванням – у центрі, без склеренхімної тканини.

Стебла на мікрофотографіях округлої форми, в конюшини повзучої – ребристе, що, ймовірно, пов'язано з пристосуванням до певної форми життя – сланкої. Провідна система конюшини суничної, лучної та повзучої представлена осьовим циліндром пучкового типу, стебло конюшини м'ясочерво́ній має безпучковий тип осьового циліндра. Провідні пучки стебел відкриті колатеральні та розташовуються напроти ребер, більш-менш укриті склеренхімною тканиною. Клітини основної паренхіми стебла мають тонкі стінки і збільшуються за розмірами з наближенням до серцевини. Серцевина частіше вивчена.

### Висновки

1. Провідна система чотирьох видів конюшини: к. лучної (*Trifolium pratense* L.), к. м'ясочерво́ній (*Trifolium incarnatum* L.), к. повзучої (*Trifolium repens* L.) і к. суничної (*Trifolium fragiferum* L.) – як тема для обговорення мікроскопічних ознак у фармакогностичному аналізі під час діагностики сировини є важливим предметом.

2. Під час мікроскопічних досліджень виявили спільні ознаки та відмінності, значущі для розпізнавання відповідності певних видів сировини.

3. Звернули увагу на закриті колатеральні пучки провідної системи в центральних жилках і черешках листків, що, всупереч відомостям фахової літератури, властиве об'єктам цього дослідження, представникам дводольних рослин.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується дослідити мікроскопічні ознаки провідної системи в сировині інших представників флори півдня України для узагальнення відомостей і встановлення хемосистематичних зв'язків із більшою кількістю зразків.

### Фінансування

Робота виконана в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Пошук і дослідження нових джерел лікарської рослинної сировини, створення субстанцій та лікарських засобів на їх основі», № держреєстрації 0120U102600.

### Подяка

Колектив авторів дякує ректорові Запорізького державного медичного університету за надану можливість проводити експерименти та колегам кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки за допомогу.

### Конфлікт інтересів: відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

### Відомості про авторів:

Гречана О. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1756-6372](https://orcid.org/0000-0002-1756-6372)

Сербін А. Г., д-р фарм. наук, професор каф. ботаніки, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6247-7520](https://orcid.org/0000-0002-6247-7520)

Рудник А. М., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-2860-0967](https://orcid.org/0000-0003-2860-0967)

Салий О. О., канд. фарм. наук, доцент каф. промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7103-2083](https://orcid.org/0000-0001-7103-2083)

### Information about authors:

Grechana O. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Serbin A. H., PhD, DSc, Professor of the Department of Botany, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Rudnyk A. M., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Saliy O. O., PhD, Associate Professor of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine.

### Сведения об авторах:

Гречаная Е. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Сербин А. Г., д-р фарм. наук, профессор каф. ботаники, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Рудник А. М., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Салий Е. А., канд. фарм. наук, доцент каф. промышленной фармации, Киевский национальный университет технологий и дизайна, Украина.

### Список літератури

- [1] Grazina L., Amaral J. S., Mafra I. Botanical origin authentication of dietary supplements by DNA-based approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020. Vol. 19, Iss. 3. P. 1080-1109. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12551>
- [2] Michetti K. M., Pérez Cuadra V., Cambi V. N. Botanical quality control of digestive tisanes commercialized in an urban area (Bahía Blanca, Argentina). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2019. Vol. 29, Iss. 2. P. 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.01.002>
- [3] Assessment of the Authenticity of Herbal Dietary Supplements: Comparison of Chemical and DNA Barcoding Methods / R. S. Pawar, S. M. Handy, R. Cheng et al. *Planta Medica*. 2017. Vol. 83, Iss. 11. P. 921-936. <https://doi.org/10.1055/s-0043-107881>

- [4] Ghosh D. Quality Issues of Herbal Medicines: Internal and External Factors. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*. 2018. Vol. 11, Iss. 1. P. 67-69. <https://doi.org/10.15406/ijcam.2018.11.00350>
- [5] Integrated analytical assets aid botanical authenticity and adulteration management / C. Simmler, J. G. Graham, S.-N. Chen, G. F. Pauli. *Fitoterapia*. 2018. Vol. 129. P. 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.11.017>
- [6] Some questions about teae folia (Thea sinensis l. seu camellia sinensis l. kuntze) as a medicinal raw material / O. V. Grechana, A. G. Serbin, S. D. Trshecinskiy et al. *EurAsian Journal of BioSciences*. 2020. Vol. 14, Iss. 2. P. 2569-2575.
- [7] Ethnobotanical study of medicinal plants in aziziye district (Erzurum, Turkey) / S. Karakaya, A. Polat, Ö. Aksakal et al. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020. Vol. 17, Iss. 2. P. 211-220. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.24392>
- [8] Ichim M. C. The DNA-based authentication of commercial herbal products reveals their globally widespread adulteration. *Frontiers in Pharmacology*. 2019. Vol. 10. P. 1227. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01227>
- [9] Ichim M. C., Häser A., Nick P. Microscopic Authentication of Commercial Herbal Products in the Globalized Market: Potential and Limitations. *Frontiers in Pharmacology*. 2020. Vol. 11. P. 876. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00876>
- [10] Ultrapformance liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of cyanogenic glucosides in Trifolium species / T. Muzashvili, B. Moniuszko-Szajwaj, L. Pecio et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014. Vol. 62, Iss. 8. P. 1777-1782. <https://doi.org/10.1021/jf4056659>
- [11] Zareh M., Faried A., Farghaly N. Micromorphological studies on the genus Lotus L. (Fabaceae: Loteae) from Egypt. *Turkish Journal of Botany*. 2017. Vol. 41, Iss. 3. P. 273-288. <https://doi.org/10.3906/bot-1607-48>
- [12] Seeing the unseen of Chinese herbal medicine processing (Paozhi): advances in new perspectives / X. Wu, S. Wang, J. Lu et al. *Chinese medicine*. 2018. Vol. 13. P. 4. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0163-3>
- [13] Light and scanning electron microscopic characterization of thirty endemic Fabaceae species of district Lahore, Pakistan / S. Shaheen, R. Fateh, S. Younis et al. *Microscopy research and technique*. 2020. Vol. 83, Iss. 12. P. 1507-1529. <https://doi.org/10.1002/jemt.23545>
- [14] Abusaief H., Boasoul S. H. A taxonomic study of twelve wild forage species of Fabaceae. *Heliyon*. 2021. Vol. 7, Iss. 2. P. e06077. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06077>
- [15] Grosu E., Ichim, M. C. Turning Meadow Weeds Into Valuable Species for the Romanian Ethnomedicine While Complying With the Environmentally Friendly Farming Requirements of the European Union's Common Agricultural Policy. *Frontiers in pharmacology*. 2020. Vol. 11. P. 529. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00529>

### References

- [1] Grazina, L., Amaral, J. S., & Mafra, I. (2020). Botanical origin authentication of dietary supplements by DNA-based approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(3), 1080-1109. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12551>
- [2] Michetti, K. M., Pérez Cuadra, V., & Cambi, V. N. (2019). Botanical quality control of digestive tisanes commercialized in an urban area (Bahía Blanca, Argentina). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(2), 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.01.002>
- [3] Pawar, R. S., Handy, S. M., Cheng, R., Shyong, N., & Grun-del, E. (2017). Assessment of the Authenticity of Herbal Dietary Supplements: Comparison of Chemical and DNA Barcoding Methods. *Planta Medica*, 83(11), 921-936. <https://doi.org/10.1055/s-0043-107881>
- [4] Ghosh, D. (2018). Quality Issues of Herbal Medicines: Internal and External Factors. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 11(1), 67-69. <https://doi.org/10.15406/ijcam.2018.11.00350>
- [5] Simmler, C., Graham, J. G., Chen, S. N., & Pauli, G. F. (2018). Integrated analytical assets aid botanical authenticity and adulteration management. *Fitoterapia*, 129, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.11.017>
- [6] Grechana, O. V., Serbin, A. G., Trshecinskiy, S. D., Panasenکو, O. I., Klimenko, L. Y., Oproshanska, T. V., & Saliy, O. O. (2020). Some questions about teae folia (Thea sinensis l. seu camellia sinensis l. kuntze) as a medicinal raw material. *EurAsian Journal of BioSciences*, 14(2), 2569-2575.

- [7] Karakaya, S., Polat, A., Aksakal, Ö., Sümbüllü, Y. Z., & İncekara, Ü. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants in aziziye district (Erzurum, Turkey). *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(2), 211-220. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.24392>
- [8] Ichim, M. C. (2019). The DNA-based authentication of commercial herbal products reveals their globally widespread adulteration. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1227. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01227>
- [9] Ichim, M. C., Häser, A., & Nick, P. (2020). Microscopic Authentication of Commercial Herbal Products in the Globalized Market: Potential and Limitations. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 876. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00876>
- [10] Muzashvili, T., Moniuszko-Szajwaj, B., Pecio, L., Oleszek, W., & Stochmal, A. (2014). Ultrapformance liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of cyanogenic glucosides in Trifolium species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(8), 1777-1782. <https://doi.org/10.1021/jf4056659>
- [11] Zareh, M., Faried, A., & Farghaly, N. (2017). Micromorphological studies on the genus Lotus L. (Fabaceae: Loteae) from Egypt. *Turkish Journal of Botany*, 41(3), 273-288. <https://doi.org/10.3906/bot-1607-48>
- [12] Wu, X., Wang, S., Lu, J., Jing, Y., Li, M., Cao, J., Bian, B., & Hu, C. (2018). Seeing the unseen of Chinese herbal medicine processing (*Paozhi*): advances in new perspectives. *Chinese medicine*, 13, 4. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0163-3>
- [13] Shaheen, S., Fateh, R., Younis, S., Harun, N., Jaffer, M., Hussain, K., Ashfaq, M., Siddique, R., Mukhtar, H., & Khan, F. (2020). Light and scanning electron microscopic characterization of thirty endemic Fabaceae species of district Lahore, Pakistan. *Microscopy research and technique*, 83(12), 1507-1529. <https://doi.org/10.1002/jemt.23545>
- [14] Abusaief, H., & Boasoul, S. H. (2021). A taxonomic study of twelve wild forage species of Fabaceae. *Heliyon*, 7(2), e06077. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06077>
- [15] Grosu, E., & Ichim, M. C. (2020). Turning Meadow Weeds Into Valuable Species for the Romanian Ethnomedicine While Complying With the Environmentally Friendly Farming Requirements of the European Union's Common Agricultural Policy. *Frontiers in pharmacology*, 11, 529. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00529>



# Параметри отримання настойки з підземних органів родовика лікарського та вивчення її біологічної активності

Т. В. Опрошанська<sup>ID</sup>\*A,B,C,D, О. П. Хворост<sup>ID</sup>A,E,F

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – експериментальним шляхом визначити оптимальні параметри отримання настойки з кореневищ із коренями родовика лікарського та дослідити її антимікробну та антиоксидантну активності.

**Матеріали та методи.** Кореневища з коренями дикорослого родовика лікарського заготовляли восени 2019 року. Під час встановлення оптимальних параметрів технології отримання настойки критерієм оцінювання вважали вихід суми поліфенолів та суми гідроксикоричних кислот, які визначали спектрофотометричним методом згідно з методиками ДФУ 2.0. Антимікробну активність вивчали методом дифузії в агар і методом серійних розведень, антиоксидантну – *in vitro* за допомогою стабільного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl – DPPH).

**Результати.** Визначили оптимальні параметри отримання настойки з кореневищ із коренями родовика лікарського: метод екстракції – мацерація за кімнатної температури протягом 48 год; співвідношення сировини та готового продукту – 1:5; екстрагент – 50 % спирт етиловий; вихід суми поліфенолів та суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на суху сировину – не менше ніж 4,0 % та 1,5 % відповідно.

Настойка характеризується антимікробною активністю щодо мікроорганізмів *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (затримка росту –  $26,40 \pm 1,04$  мм), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (затримка росту –  $24,60 \pm 0,68$  мм) і *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (затримка росту –  $23,60 \pm 0,68$  мм); у дозі 0,02 мл показала антиоксидантну активність на 70 %.

**Висновки.** Встановили параметри отримання настойки з кореневищ із коренями родовика лікарського, визначили її антимікробну й антиоксидантну активності. Результати дослідження показали актуальність продовження вивчення настойки з кореневищ із коренями родовика лікарського як перспективного лікарського засобу.

**Ключові слова:** родовик, настойка, поліфеноли, гідроксикоричні кислоти, антимікробна активність, антиоксидантна активність.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2021. Т. 14, № 3(37). С. 299–305

## Parameters of obtaining tincture from underground organs of *Sanguisorba officinalis* and study its biological activity

T. V. Oproshanska, O. P. Khvorost

**The aim of the work** is to experimentally determine the optimal parameters for obtaining a tincture of rhizomes with roots of *Sanguisorba officinalis* and to investigate its antimicrobial and antioxidant activity.

**Materials and methods.** Rhizomes with roots of *Sanguisorba officinalis* were harvested in autumn 2019. When establishing the optimal parameters of the technology of obtaining tincture, the evaluation criterion was the number of the sum of polyphenols and the amount of hydroxycinnamic acids, which were determined by spectrophotometric method according to the methods of the State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0. Antimicrobial activity was studied by agar diffusion and serial dilutions, antioxidant – *in vitro* using a stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl – DPPH).

**Results.** The optimal parameters for obtaining a tincture of rhizomes with roots of *Sanguisorba officinalis* was extraction method maceration at room temperature, raw material-finished product ratio 1:5, time 48 hours, extractant 50 % ethyl alcohol, the number of polyphenols, and the number of hydroxycinnamic acids in terms of dry raw materials not less than 4.0 % and 1.5 % respectively. The resulting tincture exhibits antimicrobial activity against microorganisms *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (growth retardation  $26.40 \pm 1.04$  mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (growth retardation  $24.60 \pm 0.68$  mm) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (growth retardation  $23.60 \pm 0.68$  mm) and at a dose of 0.02 ml showed antioxidant activity at the level of 70 %.

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/244230>

UDC 615.322:582.711:581.43]:615.451.1  
DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.244230](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.244230)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 299–305

**Key words:** sanguisorba, tincture, polyphenols, hydroxycinnamic acids, antimicrobial activity, antioxidant activity.

\*E-mail: [arctium55@ukr.net](mailto:arctium55@ukr.net)

Received: 12.08.2021 // Revised: 16.09.2021 // Accepted: 27.09.2021



**Conclusions.** The parameters of obtaining a tincture of rhizomes with roots of *Sanguisorba officinalis* were determined and its antimicrobial and antioxidant activity was studied.

**Key words:** sanguisorba, tincture, polyphenols, hydroxycinnamic acids, antimicrobial activity, antioxidant activity.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 299–305**

## Параметры получения настойки из подземных органов кровохлебки лекарственной и изучение ее биологического действия

Т. В. Опрошанская, О. П. Хворост

**Цель работы** – экспериментально определить оптимальные параметры получения настойки из корневищ с корнями кровохлебки лекарственной и изучить ее антимикробную и антиоксидантную активности.

**Материалы и методы.** Корневища с корнями дикорастущей кровохлебки лекарственной заготавливали осенью 2019 года. При определении оптимальных параметров технологии получения настойки критерием оценки служил выход суммы полифенолов и суммы гидроксикоричных кислот, которые определяли спектрофотометрическим методом согласно методикам ГФУ 2.0. Антимикробную активность изучали методом диффузии в агар и методом серийных разведений, антиоксидантную – *in vitro* с помощью стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl – DPPH).

**Результаты.** Определены оптимальные параметры получения настойки из корневищ с корнями кровохлебки лекарственной: метод экстракции – мацерация при комнатной температуре в течение 48 часов; соотношение сырья и готового продукта – 1:5; экстрагент – 50 % этиловый спирт; выход суммы полифенолов и суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на сухое сырье – не менее 4,0 % и 1,5 % соответственно. Настойка характеризуется антимикробной активностью по отношению к микроорганизмам *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (задержка роста –  $26,40 \pm 1,04$  мм), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (задержка роста –  $24,60 \pm 0,68$  мм) и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (задержка роста –  $23,60 \pm 0,68$  мм), а в дозе 0,02 мл проявила антиоксидантную активность на 70 %.

**Выводы.** Определены параметры получения настойки из корневищ с корнями кровохлебки лекарственной, установлена ее антимикробная и антиоксидантная активности. Результаты показали актуальность дальнейшего изучения настойки из корневищ с корнями кровохлебки лекарственной как перспективного лекарственного средства.

**Ключевые слова:** кровохлебка, настойка, полифенолы, гидроксикоричные кислоты, антимикробная активность, антиоксидантная активность.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 299–305**

Родовик (р.) лікарський (*Sanguisorba officinalis* L.) – багаторічна трав'яниста рослина родини Розові (*Rosaceae*). Офіційною лікарською сировиною є підземні органи, монографія на які наведена в Державній фармакопеї України 2.0 (ДФУ) [1].

Кореневища з коренями р. лікарського входять до складу лікарського збору Ангінофіт і дієтичної добавки Стоматоклін, що застосовують для догляду за порожниною рота, мають протизапальну, регенерувальну та в'язучу дії [2]. З підземних органів родовика отримують дієтичну добавку Родовик краплі, яку рекомендують додавати до раціону харчування при розладах шлунково-кишкового тракту [2]; сухий екстракт із гастропротекторною та антимікробною діями (екстракцію здійснюють методом дробної мацерації при співвідношенні сировини та екстрагента 1:10, екстрагент – 50 % спирт етиловий) [3] і сухий екстракт з протизапальною та антимікробною діями (екстракцію здійснюють дробною мацерацією: спочатку екстрагують 24 години 70 % етанолом за кімнатної температури, потім шрот екстрагують тричі гарячою водою при нагріванні на водяній бані протягом 2 год у співвідношенні 1:10) [4].

Фітоцентр Євгена Товстухи виготовляє спиртову настойку родовика лікарського для інгаляцій і вживання всередину при шлункових, маткових кровотечах, виразкових колітах [5]. З кореня р. лікарського отримали сухий екстракт (сировину заливали водою при співвідношенні 1:10, витримували на паровій

бані протягом 2 год; витяг фільтрували та упарювали до сухого залишку), який в експерименті на мишах пригнічував активність лактат дегідрогенази А та збільшував фізичну працездатність; ці дані можна використати під час розроблення дієтичної добавки для підвищення фізичної працездатності [6].

Широко застосовують кореневища з коренями р. лікарського в народній медицині. З сировини виготовляють рідкі екстракти та відвари, які характеризуються кровоспинною, в'язучою, протизапальною, антимікробною діями. Витягами лікують кровотечі різного генезу, шлунково-кишкові захворювання (виразки, ентероколіти, проноси, дизентерію, різні патології кишечника, геморой), кольпіти [7–12].

Хімічний склад родовика досить добре вивчено. Підземні органи накопичують поліфенольні сполуки (до 20 %): таніни (8–10 %), флавоноїди (1,0–1,6 %), гідроксикоричні кислоти (1,5–2,0 %), – а також амінокислоти, вуглеводи, макро- і мікроелементи [8,9,13].

Незважаючи на те, що кореневище з коренями р. лікарського є офіційною сировиною, яку широко застосовують у доказовій і народній медицині, та міститься у різних дієтичних добавках, офіційного лікарського засобу на ринку України на їхній основі немає [14]. Тому актуальним є створення настойки з кореневищ із коренями р. лікарського та встановлення її біологічної активності.

## Мета роботи

Експериментальним шляхом визначити оптимальні параметри отримання настойки з кореневищ з коренями родовика лікарського та дослідити її антимікробну та антиоксидантну активності.

## Матеріали і методи дослідження

Для дослідження використовували кореневища з коренями дикорослого р. лікарського, які заготовляли восени 2019 року наприкінці вегетації у заплаві р. Уди на околицях смт Пісочин Харківської області (систематичну належність рослини встановила доцент кафедри ботаніки НФаУ О. В. Філатова). Заготовлену сировину сушили в сушарці для фруктів і овочів за температури 45–50 °С та подрібнювали на лабораторному млині ЛЗМ-1 (Україна) до розміру часток 2–3 мм.

Під час встановлення оптимальних параметрів технології отримання настойки критерієм оцінювання вважали вихід суми поліфенолів та суми гідроксикоричних кислот, які визначали спектрофотометричним методом згідно з методиками ДФУ 2.0 (2.8.14 «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині», монографія «Кропиви листя») [15,16].

Антимікробну активність настойки з кореневищ із коренями р. лікарського вивчали методом дифузії в агар [15] і методом серійних розведень [17].

Відповідно до рекомендацій ВООЗ [18], для оцінювання активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 та *Candida albicans* ATCC 885-653. Визначили мінімальну інгібуючу (МІК) та мінімальну бактерицидну концентрацію (МБЦК) настойки.

Визначення антирадикальної активності здійснювали *in vitro* за допомогою стабільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl – DPPH). Метанольний розчин радикалу готували шляхом розчинення 4 мг DPPH у 100 мл метанолу і використовували впродовж робочої доби. Антиоксидантну активність настойки визначали у дозі 0,02 мл, що в перерахунку на сухий залишок становило 748 мкг/мл, а препарату порівняння аскорбіно-

вої кислоти – 2,8 мкг/мл. Оптичну густина визначали при довжині хвилі 517 нм [19].

## Результати

Для отримання настойки з кореневищ із коренями р. лікарського використали класичний метод – мацерацію за кімнатної температури при співвідношенні сировини та готового продукту 1:5. Екстрагент і термін екстракції визначили експериментальним шляхом. Як екстрагент використовували спирт етиловий у різних концентраціях, час екстракції – 24 (рис. 1), 48 (рис. 2) та 60 (рис. 3) годин.

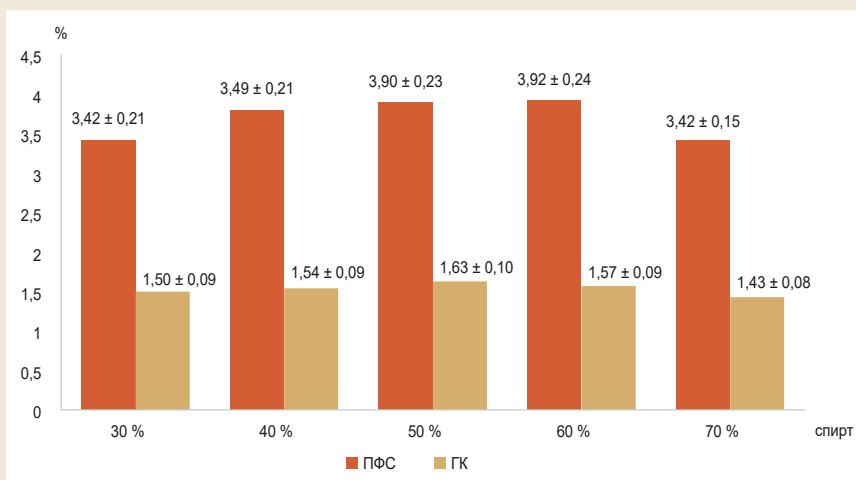
Під час мацерації виявили закономірність: при підвищенні концентрації спирту етилового від 30 % до 60 % та часу екстракції спостерігали збільшення виходу суми поліфенолів і суми гідроксикоричних кислот. У разі застосування 70 % спирту етилового як екстрагента вихід діючих речовин дещо нижчий, ніж при використанні 60 % спирту, тому продовжувати вивчати залежність виходу діючих речовин від збільшення концентрації спирту було недоцільно. При різному терміні настоювання (протягом 24, 48 та 60 год) найбільший вихід суми поліфенолів і суми гідроксикоричних кислот спостерігали для концентрацій 50 % і 60 % спирту етилового, але різниця показників незначна. Так, при екстрагуванні протягом 24 год 50 % спиртом етиловим вилучали  $3,90 \pm 0,23$  % суми поліфенолів та  $1,63 \pm 0,10$  % суми гідроксикоричних кислот, а 60 % спиртом етиловим –  $3,92 \pm 0,24$  % та  $1,57 \pm 0,09$  % відповідно. Аналогічну закономірність виявили при збільшенні часу екстракції до 48 і 60 годин. Оскільки при збільшенні концентрації етанолу від 50 % до 60 % вихід діючих речовин збільшувався незначно, то, беручи до уваги економічну доцільність, обрано оптимальний екстрагент – 50 % спирт етиловий. При збільшенні часу екстракції з 48 до 60 годин вилучали  $4,58 \pm 0,24$  % і  $4,62 \pm 0,18$  % відповідно суми поліфенолів та  $1,79 \pm 0,11$  % і  $1,81 \pm 0,08$  % відповідно суми гідроксикоричних кислот. Отже, подовження екстракції з 48 до 60 годин призводить до незначного збільшення виходу діючих речовин, тому обрали термін екстракції 48 годин.

Результати вивчення антимікробної активності настойки (визначення МІК, МБЦК, мг/мл) із кореневищ з коренями р. лікарського наведені в таблиці 1.

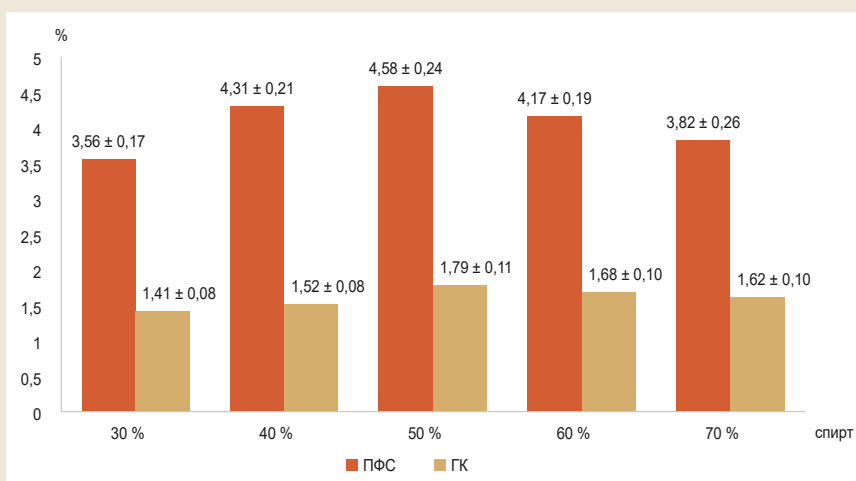
Таблиця 1. Результати визначення МІК, МБЦК настойки з кореневищ із коренями р. лікарського (n = 5)

Штам мікроорганізму	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм		МІК, мг/мл		МБЦК, мг/мл	
	1	2	1	2	1	2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24,60 ± 0,68	29,40 ± 0,68	62,5	125,0	125,0	250,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	22,60 ± 0,68	25,60 ± 0,68	62,5	125,0	125,0	250,0
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	19,60 ± 0,68	23,40 ± 0,68	125,0	500,0	250,0	500,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	23,60 ± 0,68	24,60 ± 0,68	125,0	250,0	250,0	500,0
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	26,20 ± 1,04	33,20 ± 1,04	62,5	125,0	125,0	250,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885	20,40 ± 0,68	24,60 ± 0,68	125,0	250,0	250,0	500,0

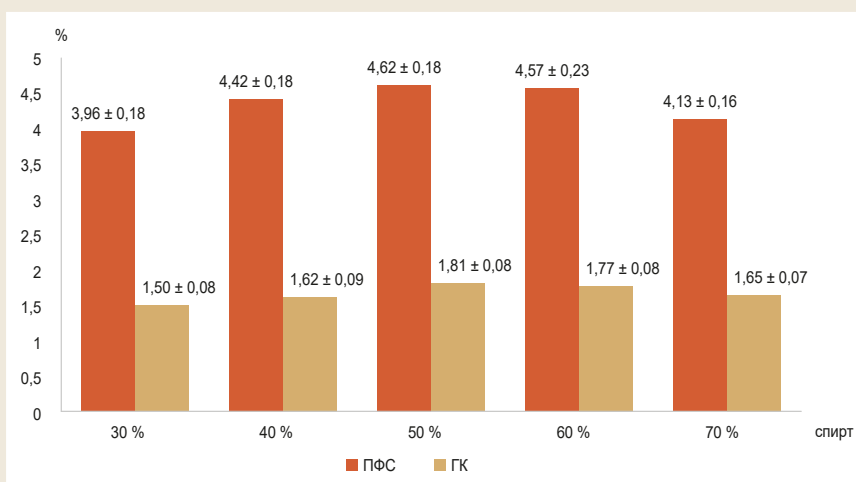
1: настойка з кореневищ із коренями р. лікарського; 2: препарат порівняння Хлорофіліп (розчин спиртовий 10 мг/мл, серія 020121, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»).



**Рис. 1.** Динаміка вилучення суми поліфенолів (у розрахунку на пірогалол) і суми гідроксикоричних кислот (у розрахунку на хлорогенову кислоту) залежно від виду екстрагента ( $m = 5$ , у %, у перерахунку на абсолютно суху сировину, час екстракції – 24 год).



**Рис. 2.** Динаміка вилучення суми поліфенолів (у розрахунку на пірогалол) і суми гідроксикоричних кислот (у розрахунку на хлорогенову кислоту) залежно від виду екстрагента ( $m = 5$ , у %, у перерахунку на абсолютно суху сировину, час екстракції – 48 год).

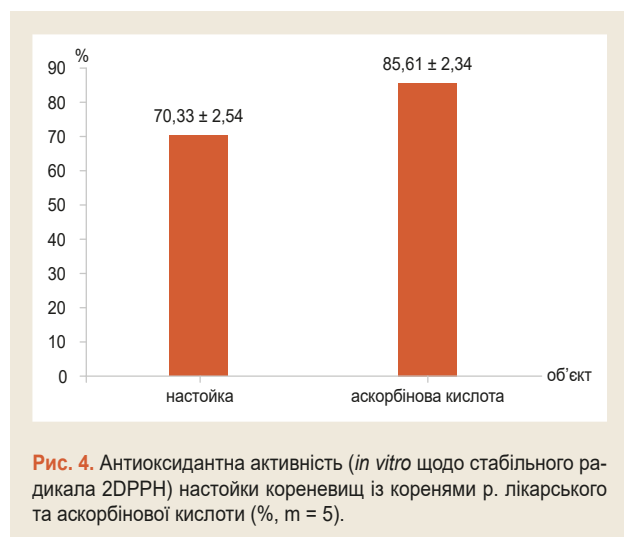


**Рис. 3.** Динаміка вилучення суми поліфенолів (у розрахунку на пірогалол) та суми гідроксикоричних кислот (у розрахунку на хлорогенову кислоту) залежно від виду екстрагента ( $m = 5$ , у %, у перерахунку на абсолютно суху сировину, час екстракції – 60 год).

Отже, настойка з кореневищ з коренями р. лікарського показала високу антимікробну активність, незначно поступилася препарату порівняння Хлорофіліпт (розчин спиртовий 10 мг/мл, серія 020121, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»). Референс-штам *Bacillus subtilis* ATCC 6633 досить чутливий до дії настойки (діаметр затримки росту мікроорганізму становив  $26,40 \pm 1,04$  мм). Також чутливими до дії настойки були мікроорганізми

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (діаметри затримки зон росту мікроорганізмів –  $24,60 \pm 0,68$  мм і  $23,60 \pm 0,68$  мм відповідно).

Для референс-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Bacillus subtilis* ATCC 6633 МІК настойки, що досліджували, становила 62,5 мг/мл, а МБЦК – 125,0 мг/мл. Для препарату порів-



няння ці показники вдвічі вищі. Щодо *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Candida albicans* ATCC 653/885 МПК і МБЦК настойки вдвічі вищі, ніж для наведених вище мікроорганізмів – по 125,0 мг/мл і 250,0 мг/мл відповідно.

Результати вивчення антиоксидантної активності настойки з кореневищ із коренями р. лікарського наведені на рис. 4.

Аналіз результатів визначення антиоксидантної активності настойки порівнюючи з референс-сполукою аскорбіновою кислотою (*in vitro* щодо стабільного радикала 2DPPH) показав: антиоксидантна активність настойки у дозі 748 мкг/мл (у перерахунку на сухий залишок) становила понад 70 %; це дещо поступається дії препарату порівняння аскорбінової кислоти в дозі 2,8 мкг/мл.

## Обговорення

За даними фахової літератури, з кореневищ із коренями р. лікарського отримують Родовик краплі (екстракт водно-спиртовий кореневищ і коренів родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) – 60 %, вода очищена – до 100 %) [2] і спиртову настойку родовика лікарського Євгена Товстухи (подрібнені свіжі кореневища та корені р. лікарського заливають 40 % спиртом етиловим у співвідношенні 1:5, настоюють 2 тижні) [5].

Настойка, що отримали, відрізняється від Родовик краплі та спиртової настойки родовика лікарського Євгена Товстухи тим, що ми використовували 50 % спирт етиловий, настоювали протягом 48 год і контролювали якість готової продукції за вмістом суми поліфенольних сполук і суми гідроксикоричних кислот, дослідили та встановили антимікробну й антиоксидантну активності продукції.

## Висновки

1. Визначили параметри отримання настойки з кореневищ із коренями р. лікарського: мацерація за кімнатної

температури протягом 48 годин, екстрагент – 50 % спирт етиловий, співвідношення сировини та готового продукту – 1:5. Вихід суми поліфенолів і суми гідроксикоричних кислот становить на менше ніж 4,0 % та 1,5 % відповідно у перерахунку на суху сировину.

2. Визначили спектр антимікробної активності настойки щодо 6 референс-штамів мікроорганізмів. Визначили МПК і МБЦК. Найбільший діаметр затримки росту під впливом настойки виявили для мікроорганізмів *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ( $26,40 \pm 1,04$  мм), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ( $24,60 \pm 0,68$  мм) та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ( $23,60 \pm 0,68$  мм).

3. Настойка з кореневищ із коренями р. лікарського проявила антиоксидантну активність на 70 % у дозі 0,02 мл (у перерахунку на сухий залишок – 748 мкг/мл), визначення якої здійснювали *in vitro* за допомогою стабільного радикалу 2DPPH.

4. Результати дослідження показали актуальність продовження вивчення настойки з кореневищ із коренями родовика лікарського як перспективного лікарського засобу.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати показали перспективність наступних досліджень настойки з підземних органів р. лікарського щодо впровадження в практичну фармацію як антимікробного та протизапального засобу при ураженнях слизових оболонок і шкіри.

## Фінансування

Робота виконана в рамках НДР Національного фармацевтичного університету: «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі», № держреєстрації 0114U000946.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Опрошанська Т. В., канд. фарм. наук, доцент, здобувач каф. хімії природних сполук і нутриціології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-3992-7183](https://orcid.org/0000-0002-3992-7183)

Хворост О. П., д-р фарм. наук, професор каф. хімії природних сполук і нутриціології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9534-1507](https://orcid.org/0000-0002-9534-1507)

## Information about authors:

Oproshanska T. V., PhD, Associate Professor, PhD student of the Department of Chemistry Natural Compound and Nutriology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Khvorost O. P., PhD, DSc, Professor of the Department of Chemistry Natural Compound and Nutriology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Опрошанская Т. В., канд. фарм. наук, доцент, соискатель каф. химии природных соединений и нутрициологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Хворост О. П., д-р фарм. наук, профессор каф. химии природных соединений и нутрициологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.



## Список літератури

- [1] Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 5. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2021. 424 с.
- [2] Компендіум. URL: <https://compendium.com.ua/>
- [3] Пат. № 141325 України, МПК 2006.01 А61К36/739. Спосіб одержання екстракту з гастропротекторною та антимікробною дією з родовика коренів / Л. І. Шульга, К. С. Безкровна, О. В. Файзулін, Т. П. Осолодченко. № 201906081 ; заявл. 31.05.2019 ; опубл. 10.04.2020, Бюл. № 7.
- [4] Пат. № 125717 України, МПК 2018.01 А61К36/739. Спосіб одержання фармакологічно активної субстанції з протизапальною та антимікробною дією / С. М. Марчишин, В. В. Кудря, Г. Р. Козир, Г. І. Феценко. № 125717 ; заявл. 04.12.2017 ; опубл. 25.05.2018, Бюл. № 10.
- [5] Настоянка родовика лікарського // Фітоцентр Євгена Товстухи. URL : <http://tovstuha.ua/ua/preparaty/nastoyanka-rodovika-likarskogo>
- [6] The Oral Administration of *Sanguisorba officinalis* Extract Improves Physical Performance through LDHA Modulation. / J. H. Han, M. Kim, H. J. Choi et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26, Iss. 6. P. 1579. <https://doi.org/10.3390/molecules26061579>
- [7] Дослідження анатомічної будови підземних органів родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) / В. В. Кудря, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра та ін. // *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. С. 26-32. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7877>
- [8] Шульга Л. І., Безкровна К. С., Пересадко І. Г. Застосування родовика лікарського у народній і офіційній медицині – базис нових фармацевтичних розробок. *Збірник наукових праць співоробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 27. С. 173-185.
- [9] Phytotherapeutic Activities of *Sanguisorba officinalis* and its Chemical Constituents: A Review. / E. Jang, K. S. Inn, Y. P. Jang et al. *The American journal of Chinese medicine*. 2018. Vol. 46, Iss. 2. P. 299-318. <https://doi.org/10.1142/S0192415X18500155>
- [10] Inhibitory effects of *Sanguisorba officinalis* root extract on HYBID (K1AA1199)-mediated hyaluronan degradation and skin wrinkling / H. Yoshida, K. Yamazaki, A. Komiya et al. *International journal of cosmetic science*. 2019. Vol. 41, Iss. 1. P. 12-20. <https://doi.org/10.1111/ics.12505>
- [11] *Sanguisorba officinalis* L. derived from herbal medicine prevents intestinal inflammation by inducing autophagy in macrophages / A. Yasueda, H. Kayama, M. Murohashi et al. *Scientific reports*. 2020. Vol. 19, Iss. 1. P. 9972. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65306-4>
- [12] Terpene Glycosides from *Sanguisorba officinalis* and Their Anti-Inflammatory Effects / D. L. Guo, J. F. Chen, L. Tan et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, Iss. 16. P. 2906. <https://doi.org/10.3390/molecules24162906>
- [13] Marchyshyn S., Kudrja V., Zarichanska O. The phenolic compounds profile of *Sanguisorba officinalis*' roots and herb. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6, Iss. 8. P. 274-277.
- [14] Державний реєстр лікарських засобів України. URL : <http://www.driz.kiev.ua>
- [15] Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «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.
- [16] Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
- [17] Стандартизація приготування мікробних суспензій / Ю. Л. Волянський, Л. Г. Міроненко, С. В. Калініченко та ін. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я України № 163-2006, Київ : (Укрмедпатентформ), 2006. 10 с.
- [18] Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text>
- [19] Поздняков В. В., Василенко А. А. Использование тест-систем для оценки общей антиоксидантной активности семян. *Селекция и насінництво*. 2017. № 112. С. 153-163. <https://doi.org/10.30835/2413-7510.2017.120443>

## References

- [1] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality (2021). *Derzhavna Farmakopeya Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (Suppl 5, 2nd ed.). Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality [in Ukrainian].
- [2] Morion. (2021). *Kompendium* [Compendium]. [in Ukrainian]. <http://compendium.com.ua>
- [3] Shulha, L. I., Bezkravna, K. S., Faizulin, O. V., & Osolodchenko, T. P. (2020). *Sposib oderzhannia ekstraktu z gastroprotektornoiu ta antimikrobnou diieiu z rodovyka koreniv* [The method of obtaining an extract with gastroprotective and antimicrobial action from the root-stock]. Ukraine Patent UA 141325. [in Ukrainian].
- [4] Marchyshyn, S. M., Kudria, V. V., Kozyr, H. R., & Feshchenko, H. I. (2018). *Sposib oderzhannia farmakologichno aktivnoi substansii z protyzapalnoiu ta antimikrobnou diieiu* [The method of obtaining a pharmacologically active substance with anti-inflammatory and antimicrobial action]. Ukraine Patent UA 125717. [in Ukrainian].
- [5] Fitotsentr Yevhena Tovstukhy. (n.d.). *Nastoianka rodovyka likarskoho* [Tincture of generic medicinal]. <http://tovstuha.ua/ua/preparaty/nastoyanka-rodovika-likarskogo>
- [6] Han, J. H., Kim, M., Choi, H. J., Jin, J. S., Lee, S. O., Bae, S. J., Ryu, D., & Ha, K. T. (2021). The Oral Administration of *Sanguisorba officinalis* Extract Improves Physical Performance through LDHA Modulation. *Molecules*, 26(6), 1579. <https://doi.org/10.3390/molecules26061579>
- [7] Kudrya, V. V., Marchyshyn, S. M., Sira, L. M., Rudenko, V. P., & Dakhym, I. S. (2017). Doslidzhennia anatomichnoi budovy pidzemnykh orhaniv rodovyka likarskoho (*Sanguisorba officinalis* L.) [Investigation of the anatomical structure of underground organs of *Sanguisorba officinalis* L.]. *Farmatsevychnyi chasopys*, (2), 26-32. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.2.7877>
- [8] Shulga, L. I., Bezkravna, K. S., & Peresadko, I. G. (2017). Zastosuvannia rodovyka likarskoho u narodnii i ofitsiinii medytsyni – bazys novykh farmatsevychnykh rozrobok [Use of greater Burnet in folk and official medicine – baseline of new pharmaceutical development]. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitnykiv NMAPO im. P. L. Shupyka*. 27, 173-184. [in Ukrainian].
- [9] Jang, E., Inn, K. S., Jang, Y. P., Lee, K. T., & Lee, J. H. (2018). Phytotherapeutic Activities of *Sanguisorba officinalis* and its Chemical Constituents: A Review. *The American journal of Chinese medicine*, 46(2), 299-318. <https://doi.org/10.1142/S0192415X18500155>
- [10] Yoshida, H., Yamazaki, K., Komiya, A., Aoki, M., Kasamatsu, S., Murata, T., Sayo, T., Cilek, M. Z., Okada, Y., & Takahashi, Y. (2019). Inhibitory effects of *Sanguisorba officinalis* root extract on HYBID (K1AA1199)-mediated hyaluronan degradation and skin wrinkling. *International journal of cosmetic science*, 41(1), 12-20. <https://doi.org/10.1111/ics.12505>
- [11] Yasueda, A., Kayama, H., Murohashi, M., Nishimura, J., Wakame, K., Komatsu, K. I., Ogino, T., Miyoshi, N., Takahashi, H., Uemura, M., Matsuda, C., Kitagawa, T., Takeda, K., Ito, T., Doki, Y., Eguchi, H., Shimizu, S., & Mizushima, T. (2020). *Sanguisorba officinalis* L. derived from herbal medicine prevents intestinal inflammation by inducing autophagy in macrophages. *Scientific reports*, 10(1), 9972. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65306-4>
- [12] Guo, D. L., Chen, J. F., Tan, L., Jin, M. Y., Ju, F., Cao, Z. X., Deng, F., Wang, L. N., Gu, Y. C., & Deng, Y. (2019). Terpene Glycosides from *Sanguisorba officinalis* and Their Anti-Inflammatory Effects. *Molecules*, 24(16), 2906. <https://doi.org/10.3390/molecules24162906>
- [13] Marchyshyn, S., Kudrja, V., & Zarichanska, O. (2017). The phenolic compounds profile of *Sanguisorba officinalis*' roots and herb. *The Pharma Innovation Journal*, 6(8), 274-277.
- [14] *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy* [State register of medicines of Ukraine]. [in Ukrainian]. <http://www.driz.kiev.ua>
- [15] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2015). *Derzhavna Farmakopeya Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (Vol. 1, 2nd ed.). Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. [in Ukrainian].
- [16] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2014). *Derzhavna Farmakopeya Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (Vol. 3, 2nd ed.). Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. [in Ukrainian].
- [17] Volianskyi, Yu. L., Myronenko, L. H., Kalinichenko, S. V., Skliar, N. I., Kolokolova, O. B., Tkach, L. V., & Peretiatio, O. H. (2006). Standarty-

- zatsiia pryhotuvannia mikrobynykh suspenzii [Standardization of preparation of microbial suspensions]. *Informatsiinyi lyst pro novovvedennia v systemi okhorony zdorovia Ukrainy No. 163-2006*. [in Ukrainian].
- [18] Ministry of Health of Ukraine. (2014, April 05). *Pro zatverdzhennia metodychnykh vказivok "Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ"* [On approval of guidelines «Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs» (No. 167)]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text>
- [19] Pozdniakov, V. V., & Vasylenko, A. A. (2017). Ispol'zovanie test-sistem dlya otsenki obshchei antioksidantnoi aktivnosti semyan [Use of test systems for assessing the total antioxidant activity of seeds]. *Selektsiia i nasynystvo*, (112), 153-163. <https://doi.org/10.30835/2413-7510.2017.120443>



## Вивчення ефективності антимікробних консервантів під час обґрунтування складу дерматологічного гелю з фітокомплексом

В. С. Миргород<sup>id</sup>A,B,C,D, О. Г. Башура<sup>id</sup>A,B,C,D,F, О. П. Стрілець<sup>id</sup>A,B,C,E,F, С. Г. Бобро<sup>id</sup>\*A,B,C, Л. С. Стрельников<sup>id</sup>A,E,F

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мікробіологічна стабільність лікарських засобів завжди потребує пильної уваги на етапі фармацевтичної розробки складу, оскільки мікробне забруднення може становити загрозу і для здоров'я пацієнта, і для стабільності лікарського засобу. Рівень мікробного забруднення можна контролювати шляхом моніторингу якості вихідної сировини, дотримання відповідної санітарної обробки виробничих приміщень та обладнання, використання науково обґрунтованої речовини-консерванта у складі препарату.

**Мета роботи** – обґрунтування використання речовини-консерванта та її концентрації у складі розроблюваного гелю з фітокомплексом.

**Матеріали та методи.** Об'єкти дослідження – зразки гелю з додаванням речовин-консервантів: Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоату (E218), сорбінової кислоти, сорбату калію, бензойної кислоти. Використали концентрації антимікробних речовин, що відповідають їхньому середньому значенню від діапазону застосованих концентрацій. Під час досліджень використовували методику оцінювання ефективності антимікробних консервантів, що наведена у ДФУ 2.0.

**Результати.** Експериментальні дослідження з використанням консервантів Euxyl 9010K 0,60 %, метилпарагідроксибензоату 0,25 %, сорбінової кислоти 0,10 %, сорбату калію 0,25 %, бензойної кислоти 0,15 % у складі зразків розроблюваного гелю з фітокомплексом показали: результати для всіх зразків повністю відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

За результатами першого етапу досліджень, найбільшу антимікробну ефективність показав зразок із консервантом Euxyl 9010K. Предмет другого етапу досліджень – обґрунтування концентрації Euxyl 9010K (0,45 %, 0,60 % і 0,75 %); у підсумку встановили, що зразки гелю з концентраціями Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів. Зразок із концентрацією Euxyl 9010K 0,45 % також відповідає цим вимогам, але логарифм зменшення кількості життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas aeruginosa* через 2 доби зберігання становить 2,00, тобто відповідає граничному значенню за ДФУ.

**Висновки.** Експериментально обґрунтовано доцільність використання як консерванта Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин) у концентрації 0,60 %.

**Ключові слова:** гель із фітокомплексом, ефективність, консерванти, Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоат (E218), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 306–313**

### Study of the efficacy of antimicrobial preservatives in justifying the composition of a dermatological gel with a phytocomplex

V. S. Myrhorod, O. H. Bashura, O. P. Strilets, S. H. Bobro, L. S. Strelnykov

The microbiological stability of medicinal products always requires close attention during the pharmaceutical development phase, as microbial contamination can pose a threat to both the health of the patient and the stability of the medicinal product. The level of microbial contamination can be controlled by monitoring the quality of raw materials, compliance with appropriate sanitation of production facilities and equipment, the use of scientifically justified preservatives in the drug.

**The aim of the work** is to substantiate the use of a preservative and its concentration in the composition of the developed gel with phytocomplex.

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239291>

UDC 615.262:615.454.1

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239291](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239291)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 306–313

**Key words:** phytocomplex gel, effect, preservatives, Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid.

\*E-mail: [svetabobro1@gmail.com](mailto:svetabobro1@gmail.com)

Received: 10.08.2021 // Revised: 30.09.2021 // Accepted: 01.10.2021

**Materials and methods.** The objects of the study were gel samples with the addition of a preservative: Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid. Concentrations of antimicrobial substances used corresponded to their average value from the range of used concentrations. The research has used the method of evaluating the effectiveness of antimicrobial preservatives, given in SPU 2.0.

**Results.** Experimental studies using preservatives Euxyl 9010K 0.60 %, methyl parahydroxybenzoate 0.25 %, sorbic acid 0.10 %, potassium sorbate 0.25 %, benzoic acid 0.15 % in the samples of the developed gel with phytocomplex had shown that the obtained results for all samples fully meet the requirements of SPU in terms of "antimicrobial efficacy of preservatives" for topical drugs. According to the results of the first stage of research, it had been found that the greatest antimicrobial efficacy was shown by a sample with the preservative Euxyl 9010K. The subject of the second stage of research was the substantiation of the concentration of Euxyl 9010K (0.45 %, 0.60 %, and 0.75 %) based on the results of which it had been established that the gel samples with concentrations of Euxyl 9010K 0.60 % and 0.75 % met the requirements of SPU on the indicator of "antimicrobial efficacy of preservatives" for topical medicinal products. The sample with a concentration of Euxyl 9010K 0.45 % also met these requirements, but the logarithm of the reduction in the number of viable cells of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria after 2 days of storage is 2.00, which was the limit value according to the requirements of SPU.

**Conclusions.** The expediency of using Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol) at a concentration of 0.60 % as a preservative had been experimentally substantiated.

**Key words:** phytocomplex gel, effect, preservatives, Euxyl 9010K (90 % phenoxyethanol, 10 % ethylhexylglycerol), methyl parahydroxybenzoate (E218), sorbic acid, potassium sorbate, benzoic acid.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 306–313**

### Изучение эффективности антимикробного консерванта при обосновании состава дерматологического геля с фитокомплексом

В. С. Миргород, А. Г. Башура, О. П. Стрилец, С. Г. Бобро, Л. С. Стрельников

Микробиологическая стабильность лекарственных средств всегда требует пристального внимания на этапе фармацевтической разработки состава, поскольку микробное загрязнение может представлять угрозу и для здоровья пациента, и для стабильности лекарственного средства. Уровень микробного загрязнения можно контролировать путем мониторинга качества исходного сырья, соблюдения соответствующей санитарной обработки производственных помещений и оборудования, использования научно обоснованного консервирующего вещества в составе препарата.

**Цель работы** – обоснование использования консервирующего вещества и его концентрации в составе разрабатываемого геля с фитокомплексом.

**Материалы и методы.** Объекты исследования – образцы геля с добавлением консервирующих веществ: Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин), метилпарагидроксибензоата (E218), сорбиновой кислоты, сорбата калия, бензойной кислоты. Использовали концентрации антимикробных веществ, отвечающих их среднему значению от диапазона используемых концентраций. В ходе исследований использовали методику оценки эффективности антимикробных консервантов, представленную в ГФУ 2.0.

**Результаты.** Экспериментальные исследования с использованием консервантов Euxyl 9010K 0,60 %, метилпарагидроксибензоата 0,25 %, сорбиновой кислоты 0,10 %, сорбата калия 0,25 %, бензойной кислоты 0,15 % в составе образцов разрабатываемого геля с фитокомплексом показали: результаты для всех образцов полностью соответствуют требованиям ГФУ к лекарственным препаратам для наружного применения по показателю антимикробной эффективности консервантов. По результатам первого этапа исследований, наибольшую антимикробную эффективность показал образец с консервантом Euxyl 9010K. Предмет второго этапа – обоснование концентрации Euxyl 9010K (0,45 %, 0,60 % и 0,75 %); установлено, что образцы геля с концентрациями Euxyl 9010K 0,60 % и 0,75 % соответствуют требованиям ГФУ к лекарственным препаратам для наружного применения по показателю антимикробной эффективности консервантов. Образец с концентрацией Euxyl 9010K 0,45 % также соответствует требованиям, но логарифм уменьшения количества жизнеспособных клеток бактерий *Pseudomonas aeruginosa* через 2 суток хранения составляет 2,00, что отвечает предельным значениям по ГФУ.

**Выводы.** Экспериментально обоснована целесообразность использования в качестве консерванта Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин) в концентрации 0,60 %.

**Ключевые слова:** гель с фитокомплексом, эффект, консерванты, Euxyl 9010K (90 % феноксиэтанол, 10 % этилгексилглицерин), метилпарагидроксибензоат (E218), сорбиновая кислота, сорбат калия, бензойная кислота.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 306–313**

М'які лікарські засоби, як і будь-які продукти, що містять воду та суміш органічних і неорганічних сполук, потребують захисту від микробного забруднення, щоб гарантувати безпеку для пацієнта та забезпечити якість під час зберігання, використання засобу. Це забезпечується хімічними, фізичними або фізико-хімічними стратегіями. Найпоширеніша стратегія ґрунтується на застосуванні антимікробних засобів, що можуть бути

синтетичними, природними сполуками чи навіть багатофункціональними інгредієнтами. Консерванти, які широко застосовують у фармацевтичній практиці консервації м'яких лікарських засобів: метилпарагидроксибензоат (E218), пропілпарагидроксибензоат (E216), натрію метилпарабен (E219), натрію пропілпарабен (E217), этилпарагидроксибензоат (E214), калію сорбат (E202), натрію сульфат безводний (E221), спирт бензиловий, бензал-



конію хлорид, хлоргексидину глюконат, феноксіетанол, кислота сорбінова, цетримід, цетилпіридинію хлорид, хлоралгідрат, хлоркрезол [1–3]. Ці хімічні агенти мають різні механізми протимікробної дії залежно від хімічної структури та реакційної здатності функціональної групи. Консерванти діють на кілька клітинних мішеней, однак можуть мати токсичний ефект для пацієнта; їх використання у високих концентраціях є ефективнішим для збереження продукту, але потенційно токсичне для пацієнта, а при низьких концентраціях може розвиватись мікробна резистентність [4,5]. Тому питанню щодо обґрунтування концентрації антимікробних речовин у складі лікарських засобів приділяють особливу увагу.

Системний підхід до організації стратегії консервації полягає в забезпеченні, використанні валідованих технологічних процесів згідно з Належною виробничою практикою (GMP), контролі вихідної сировини та підтвердженні ефективності консерванта за допомогою відповідних методологій [6,7]. Мікробне забруднення може виникнути під час виробництва (первинне забруднення) та/або під час використання (вторинне забруднення). Ідеальна система консервації повинна захищати продукт від мікробної деградації в закритому пакуванні до використання та у відкритому пакуванні протягом усього терміну використання. Усі потенційні джерела забруднення мають бути ідентифіковані та контрольовані [8]. Для цього треба визначити основні етапи, коли є висока ймовірність виникнення ризику для мікробіологічної стабільності лікарського засобу: перевірка, контроль сировини, виробничий процес, система контейнер/закупорювальний засіб та умови використання засобу пацієнтом.

На кафедрі косметології і ароматології Національного фармацевтичного університету здійснюється наукова робота з розроблення складу гелю з фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань. Фітокомплекс складається з чабрецю екстракту сухого з сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин і суху речовину 0,035 г, кропиви екстракту сухого з сумою гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху речовину 0,020 г, горіха листя екстракту сухого з сумою танінів у перерахунку на галову кислоту та суху речовину 0,030 г. Один з етапів фармацевтичної розробки, коли закладається стратегія захисту фармацевтичного препарату від мікробного забруднення, – обґрунтування необхідності використання антимікробних речовин [9]. Для цього здійснили мікробіологічні дослідження, результати яких наведені у статті.

## Мета роботи

Обґрунтування вибору консерванта та його концентрації під час розроблення складу гелю з фітокомплексом для забезпечення мікробіологічної стабільності. Дослідити ефективність використання у складі гелю антимікробних консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксibenзоат (E218, метилпарабен), кислота сорбінова, калію сорбат, кислота бензойна.

## Матеріали і методи дослідження

Об'єкти досліджень – 6 зразків гелю з фітокомплексом з додаванням одного з обраних для дослідження консервантів. Використали концентрації антимікробних речовин, що відповідають їхньому середньому значенню від діапазону застосованих концентрацій [10,11]. Для мікробіологічних досліджень виготовили 6 зразків: № 1 – гель без консерванта; № 2 – гель + Euxyl 9010K 0,60 %; № 3 – гель + метилпарагідроксibenзоат 0,25 %; № 4 – гель + сорбінова кислота 0,10 %; № 5 – гель + сорбат калію 0,25 %; № 6 – гель + бензойна кислота 0,15 %.

Під час досліджень використовували методику ДФУ 2.0 (Т.1, п. 5.1.3, с. 773) «Ефективність антимікробних консервантів» [12]. Зміст методу полягає в тому, що в зразки гелю, які містяться в первинному пакуванні, додають заздалегідь відому кількість тест-мікроорганізмів, зберігають у захищеному від світла місці за температури 20–25 °C. Після інокуляції та через наведені у ДФУ проміжки часу (для засобів зовнішнього застосування – 2, 7, 14 і 28 діб) з інокульованих зразків гелю відбирають проби (1,0 г) для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів.

Дослідження здійснили в асептичних умовах, які забезпечували використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки AC2-4E1 «Eisco», Індонезія).

Як тест-мікроорганізми використали *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Передусім проводили досліди на відповідність ростових властивостей поживних середовищ (кількість колоній, що вирости, при посіві відповідної кількості мікроорганізмів). Для цього поживні середовища інокулювали малою кількістю тест-штамів мікроорганізмів ( $10$ – $10^2$  колоній/утворювальних одиниць на мл середовища – КУО/мл). Вихідну культуру кожного з тест-мікроорганізмів пересівали на поверхню густого соєво-казеїнового живильного середовища при вирощуванні бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*); при вирощуванні грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) пересівали на густе живильне Сабуро-декстрозне середовище без додавання антибіотиків. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

За даними таблиці 1, морфологія колоній при культивуванні на поживних середовищах і морфологія клітин при мікроскопії типова, всі культури мікроорганізмів відповідають таксономічному позначенню штаму, а отже і вимогам щодо ростових властивостей поживних середовищ.

Для приготування культур тест-мікроорганізмів здійснили висіви бактерій на поверхню щільного поживного соєво-казеїнового середовища; коли висівали гриби, використовували Сабуро-декстрозне поживне середовище (без додавання антибіотиків). Культури бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* інкубували за температури 30–35 °C протягом 18–24 год у термостаті TCO-80, культуру *Candida albicans* – протягом

Таблиця 1. Ростові властивості поживних середовищ

Тест-штами мікроорганізмів	Поживні середовища	Умови культивування		Висновок
		температура, °С	термін культивування, години	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	соево-казеїновий агар	30–35 °С	24–72	морфологія колоній і клітин типова
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	соево-казеїновий агар	30–35 °С	24–72	морфологія колоній і клітин типова
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	Сабуро-декстрозний агар	20–25 °С	24–120	морфологія колоній і клітин типова
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Сабуро-декстрозний агар	20–25 °С	24–120	морфологія колоній і клітин типова

2–3 діб за температури 20–25 °С, культуру *Aspergillus brasiliensis* – 7 діб за температури 20–25 °С.

Суспензії бактеріальних культур і культури гриба *Candida albicans* готували шляхом змивання мікробної маси з поверхні поживного середовища стерильним суспендувальним розчином, який містив 9 г/л натрію хлориду Р. У цій суспензії доводили вміст мікроорганізмів до  $10^8$  клітин у мл, зберігаючи суспензію у стерильній пробірці. Для приготування суспензії культури *Aspergillus brasiliensis* використовували стерильний суспендувальний розчин, який містив 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р, доводили вміст спор до  $10^8$  у мл. Одразу після приготування кожної суспензії відбирали пробу та визначали кількість колонійутворювальних одиниць (КУО) в 1 мл кожної суспензії шляхом прямого висіву на чашки Петрі на щільні поживні середовища, які використовували для початкового вирощування тест-культур.

У кожний зразок гелю з фітокомплексом вносили суспензію тест-мікроорганізмів із навантаженням  $10^8$  КУО в 1 мл. У самому зразку мікробне навантаження має становити від  $10^5$  КУО/мл до  $10^6$  КУО/мл.

Ефективність антимікробних консервантів оцінювали шляхом визначення логарифма (lg) зменшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за певний період зберігання після контамінації зразків гелю. Відповідно до ДФУ, в засобах для зовнішнього використання логарифм зменшення числа життєздатних клітин бактерій через 2 доби повинен становити не менше ніж 2, через 7 діб – не менше ніж 3, надалі кількість життєздатних клітин бактерій не повинна збільшуватися. Логарифми зменшення кількості життєздатних клітин грибів за 14 діб мають становити не менше ніж 2.

Після інокуляції мікроорганізмами зразки (навантаження  $10^5$ – $10^6$  КУО/мл) ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів, з кожного зразка відбирали проби: відразу після обсіменіння та через певні інтервали часу (2, 7, 14, 28 діб), методом прямого посіву висівали на агаризовані поживні середовища на чашки Петрі для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів і розрахунку логарифма їхнього зменшення.

Зразки лікарської форми без консервантів № 1 також інокулювали культурами мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 і зберігали протягом 28 діб.

## Результати

План експерименту побудований із двох етапів: перший – визначення найбільш ефективної речовини-консерванта; другий – обґрунтування її оптимальної ефективної концентрації. Результати першого етапу з дослідження антимікробної ефективності обраних для дослідження консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксіетанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксибензоат (E218, метилпарабен), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота наведено в таблиці 2.

Результати другого етапу з обґрунтування ефективної концентрації консерванта, який показав кращі результати на попередньому етапі досліджень, а саме дослідження антимікробної ефективності консерванта Euxyl 9010K у концентраціях 0,45 %, 0,60 %, 0,75 % наведені в таблиці 3.

## Обговорення

Експериментальні дані (табл. 2) свідчать, що зразок гелю без консерванта № 1 не відповідає вимогам ДФУ, оскільки логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій (*Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*) менше ніж 2,0 і 3,0 через 2 і 7 діб відповідно. Для клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках за вимогами ДФУ має бути не менше ніж 2,0, а у зразку № 1 – 1,85 (*Candida albicans*) і 1,78 (*Aspergillus brasiliensis*), що також не відповідає вимогам. Отже, результати, що наведені в таблиці 2, та відсутність у зразка № 1 антимікробної активності доводять необхідність додавання антимікробних консервантів до складу гелю.

За даними таблиці 2, після 2 діб зберігання інокульованих зразків гелів із різними консервантами логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій культури *Staphylococcus aureus* дорівнював понад 2,0 для всіх зразків: з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) – 3,76; з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3) – 3,02; з сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) – 2,35; з сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 2,96; з бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 2,80.

Для культури *Pseudomonas aeruginosa* після 2 діб зберігання зразків логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів становив більше ніж 2 для всіх зразків: з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) – 3,06; із метилпарагідрокси-

**Таблиця 2.** Результати дослідження антимікробної ефективності консервантів у зразках гелів

Тест-культури мікроорганізмів	Номер зразка	Консервант, концентрація (%)	Мікробне навантаження після інюляції, Іг КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)			
				2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	№ 1	без консерванта	5,65	2/0,83	3/1,56	2,15	2,61
	№ 2	Еухуl 9010К, 0,60 %	5,70	2/3,76	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,65	2/3,02	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,75	2/2,35	3/3,32	НВ	Н3/НВ
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,70	2/2,96	3/3,44	НВ	Н3/НВ
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,75	2/2,80	3 /3,38	НВ	Н3/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	№ 1	без консерванта	5,50	2/0,85	3/1,55	1,85	2,68
	№ 2	Еухуl 9010К, 0,60 %	5,80	2/3,06	3/ 4,47	НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,90	2/2,80	3/4,10	НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,50	2/2,30	3/3,10	НВ	Н3/НВ
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	2/2,75	3/3,85	НВ	Н3/НВ
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,50	2/2,70	3/3,55	НВ	Н3/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	№ 1	без консерванта	5,70	0,38	1,65	2/1,85	1,96
	№ 2	Еухуl 9010К, 0,60 %	5,55	2,77	3,55	2/НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,75	1,68	3,10	2/3,55	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,75	1,15	1,98	2/2,10	Н3/Н3
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	1,25	2,25	2/3,15	Н3/Н3
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,80	1,19	2,07	2/2,25	Н3/Н3
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	№ 1	без консерванта	5,50	0,95	1,35	2/1,78	1,92
	№ 2	Еухуl 9010К, 0,60 %	5,80	1,69	3,25	2/НВ	Н3/НВ
	№ 3	метилпарабен, 0,25 %	5,70	2,01	3,15	2/НВ	Н3/НВ
	№ 4	сорбінова кислота, 0,10 %	5,70	1,35	2,10	2/2,20	Н3/Н3
	№ 5	сорбат калію, 0,25 %	5,80	1,55	2,75	2/3,55	Н3/Н3
	№ 6	бензойна кислота, 0,15 %	5,60	1,77	2,42	2/3,40	Н3/Н3

НВ: мікроорганізми не виявили; Н3: не спостерігали збільшення кількості мікроорганізмів.

**Таблиця 3.** Результати дослідження антимікробної ефективності консерванта Еухуl 9010К у зразках гелю

Тест-культури мікроорганізмів	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інюляції, Іг КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)			
			2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,45	5,66	2/2,32	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	0,60	5,70	2/3,76	3/НВ	НВ	Н3/НВ
	0,75	5,68	2/3,74	3/НВ	НВ	Н3/НВ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,45	5,50	2/2,00	3/3,05	НВ	Н3/НВ
	0,60	5,80	2/3,06	3/4,47	НВ	Н3/НВ
	0,75	5,65	2/3,10	3/4,45	НВ	Н3/НВ
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	0,45	5,69	0,98	1,27	2/2,12	Н3/НВ
	0,60	5,55	2,77	3,55	2/НВ	Н3/НВ
	0,75	5,42	2,69	3,58	2/НВ	Н3/НВ
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	0,45	5,75	1,22	1,49	2/НВ	Н3/НВ
	0,60	5,66	1,69	3,25	2/НВ	Н3/НВ
	0,75	5,70	1,62	3,28	2/НВ	Н3/НВ

НВ: мікроорганізми не виявили; Н3: не спостерігали збільшення кількості мікроорганізмів.



бензоатом 0,25 % (№ 3) – 2,80; із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) – 2,30; із сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 2,75; із бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 2,70.

На 7 добу не виявили життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* у зразках гелів з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3); для зразків із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4) логарифм зменшення кількості життєздатних клітин становив 3,32; з сорбатом калію 0,25 % (№ 5) – 3,44; з бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) – 3,38. За вимогами ДФУ, логарифм зменшення кількості життєздатних клітин має бути не менше ніж 3,0, а отже зразки відповідали вимогам.

Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин *Pseudomonas aeruginosa* у зразках гелів з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) становив 4,47, 4,10, 3,10, 3,85, 3,55 відповідно (згідно з вимогами ДФУ, має бути не менше ніж 3,0). Отже, за результатами дослідження, зразки відповідають вимогам ДФУ.

На 14 і 28 добу інкубації у зразках з Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) життєздатні мікроорганізми бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* не виявлені.

Для клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках за вимогами ДФУ має дорівнювати не менше ніж 2,0. Дослідження показали, що у зразках гелю з консервантом Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2) життєздатні клітини грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не виявлені; у зразках гелю з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3) життєздатні клітини грибів *Aspergillus brasiliensis* не виявлені. У зразках гелів із метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) і бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) lg зменшення кількості життєздатних клітин *Candida albicans* становив 3,55, 2,10, 3,15, 2,25 відповідно. Щодо культури *Aspergillus brasiliensis*, то у зразках гелів із сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5) бензойною кислотою 0,15 % (№ 6) на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин дорівнював 2,20, 3,55, 3,40 відповідно (за вимогами ДФУ, має бути не менше ніж 2,0, а отже результати відповідають вимогам).

На 28 добу зберігання інокульованих зразків гелів кількість життєздатних клітин грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не збільшувалась або життєздатні клітини не виділяли в жодному зі зразків з усіма консервантами: Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбіновою кислотою 0,10 % (№ 4), сорбатом калію 0,25 % (№ 5), бензойною кислотою 0,15 % (№ 6).

Отже, експерименти з використанням консервантів Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2), метилпарагідроксибензоату 0,25 % (№ 3), сорбінової кислоти 0,10 % (№ 4), сорбату

калію 0,25 % (№ 5), бензойної кислоти 0,15 % (№ 6) у складі зразків гелю з фітокомплексом показали: результати для всіх зразків повністю відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

Серед зразків, які вивчали, найбільшу антимікробну ефективність мав зразок із консервантом Euxyl 9010K 0,60 % (№ 2). Далі за антимікробною ефективністю консервантів зразки відповідають такій послідовності: з метилпарагідроксибензоатом 0,25 % (№ 3), сорбатом калію 0,25 % (№ 5), бензойною кислотою 0,15 % (№ 6), найменшу активність мали зразки з консервантом сорбіновою кислотою 0,1 % (№ 4). Втім дослідження показали, що зразки з усіма обраними антимікробними консервантами відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

На другому етапі експерименту здійснили дослідження для визначення мінімальної ефективної концентрації консерванта Euxyl 9010K. Для цього виготовили зразки гелів із фітокомплексом із концентраціями Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 %, 0,75 %, визначили антимікробну ефективність консерванта в цих зразках. Результати наведені в таблиці 3.

За даними таблиці 3, після 2 діб зберігання інокульованих зразків гелів із різними концентраціями консерванта Euxyl 9010K логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів бактерій становив більше ніж 2,0 для культури *Staphylococcus aureus* – 2,32 (концентрація Euxyl 9010K 0,45 %), 3,76 (концентрація Euxyl 9010K 0,60 %) і 3,74 (Euxyl 9010K 0,75 %).

Для культури *Pseudomonas aeruginosa* логарифм зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів із консервантом Euxyl 9010K 0,45 % дорівнював 2,0 (граничне значення), для зразків гелю з концентрацією Euxyl 9010K 0,60 % цей показник становив 3,06, з Euxyl 9010K 0,75 % – 3,10.

На 7 добу життєздатні клітини мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* у зразках гелів із концентрацією Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % не виявлено (за вимогами ДФУ, логарифм зменшення має бути не менше ніж 3,0). Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин *Pseudomonas aeruginosa* у зразках становив не менше ніж 3,0 (за вимогами ДФУ): з Euxyl 9010K 0,45 % дорівнював 3,05, Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % – 4,47 і 4,45 відповідно; це відповідає вимогам ДФУ.

На 14 і 28 добу інкубації в інокульованих зразках із концентраціями Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % життєздатні мікроорганізми бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* не виявили.

Для клітин грибів *Candida albicans* на 14 добу lg зменшення кількості життєздатних клітин у зразках з Euxyl 9010K 0,45 % становив 2,12 (за вимогами ДФУ, не менше ніж 2,0). У зразках гелю з Euxyl 9010K 0,60 % та Euxyl 9010K 0,75 % життєздатні клітини грибів *Candida albicans* не виявили. Для культури *Aspergillus brasiliensis* на 14 добу у зразках з Euxyl 9010K 0,45 %, 0,60 % та 0,75 %



життєздатні клітини не виявили. На 28 добу зберігання інокульованих зразків гелів життєздатні клітини грибів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* не виявлені в жодному зі зразків із консервантом Euxyl 9010K у концентраціях 0,45 %, 0,60 %, 0,75 %.

Отже, експерименти з використанням консерванта Euxyl 9010K із концентраціями 0,45 %, 0,60 % і 0,75 % у складі розроблюваного препарату (гелю) показали: результати для зразків із концентраціями Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % відповідають вимогам ДФУ до лікарських препаратів для зовнішнього застосування за показником антимікробної ефективності консервантів.

Результати дослідження зразка з консервантом Euxyl 9010K 0,45 % показали, що вони також відповідають вимогам ДФУ до антимікробної ефективності консервантів, але логарифм зменшення кількості життєздатних клітин бактерій *Pseudomonas aeruginosa* через 2 доби зберігання становить 2,00, а це граничне значення за ДФУ щодо лікарських препаратів для зовнішнього застосування.

Встановлено, що зразки гелю з консервантом Euxyl 9010K 0,60 % і 0,75 % перспективні для розроблення гелю з фітокомплексом [13,14]. Найбільш прийнятним антимікробним консервантом за результатами досліджень вважаємо зразок гелю з Euxyl 9010K у концентрації 0,60 %. Це зумовлено його вищою антимікробною активністю щодо деяких культур мікроорганізмів або активністю майже на рівні зразка з Euxyl 9010K 0,75 %, а отже збільшення концентрації консерванта до 0,75 % недоцільне.

## Висновки

1. Здійснили мікробіологічні дослідження з вивчення антимікробної ефективності консервантів Euxyl 9010K (90 % феноксістанол, 10 % етилгексилгліцерин), метилпарагідроксibenзоат (E218), сорбінова кислота, сорбат калію, бензойна кислота під час розроблення складу гелю з фітокомплексом для лікування дерматологічних захворювань.

2. Експериментально обґрунтували доцільність використання як консерванта Euxyl 9010K у концентрації 0,60 %.

**Перспективи подальших досліджень.** Гель із фітокомплексом перебуває на етапі комплексних фармакологічних, біофармацевтичних, хімічних і технологічних досліджень для впровадження в серійне промислове виробництво.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Національного фармацевтичного університету: «Створення лікувально-косметичних засобів», № держреєстрації 0103U000482.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Миргород В. С., аспірантка каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна. ORCID ID: [0000-0001-2345-6789](https://orcid.org/0000-0001-2345-6789)

Башура О. Г., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-1896-9904](https://orcid.org/0000-0003-1896-9904)

Стрілець О. П., д-р фарм. наук, професор каф. біотехнології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0846-8663](https://orcid.org/0000-0003-0846-8663)

Бобро С. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. косметології і ароматології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7933-107X](https://orcid.org/0000-0001-7933-107X)

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, професор каф. біотехнології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-0883-470X](https://orcid.org/0000-0002-0883-470X)

## Information about authors:

Myrhorod V. S., PhD-student of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Bashura O. H., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Strilets O. P., DSc, Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Bobro S. H., PhD, Associate Professor of the Department of Cosmetology and Aromology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Strelnykov L. S., PhD, DSc, Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Миргород В. С., аспирант каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Башура О. Г., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Стрилец О. П., д-р фарм. наук, профессор каф. биотехнологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Бобро С. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. косметологии и ароматологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, профессор каф. биотехнологии, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

## Список літератури

- [1] Державний реєстр лікарських засобів України. URL : <http://www.driz.kiev.ua>
- [2] Нормативно-директивні документи МОЗ України. URL : <http://mozdocs.kiev.ua>
- [3] Попова Т. В., Стрілець О. П., Кухтенко Г. П. Обґрунтування вибору консерванта та його концентрації у складі гелю протиалергічної дії. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 4, С. 78-87. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.08>
- [4] Preservatives in Personal Hygiene and Cosmetic Products, Topical Medications, and Household Cleaners in Spain / M. A. Pastor-Nieto, F. Alcántara-Nicolás, V. Melgar-Molero et al. *Actas dermo-sifiliograficas*. 2017. Vol. 108, Iss. 8. P. 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.04.003>
- [5] Nowak K., Jabłońska E., Ratajczak-Wrona W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental research*. 2021. Vol. 198. P. 110488. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110488>
- [6] СТ-Н МОЗУ 42-3.4:2020 Лікарські засоби. Настанова з виробництва готових лікарських засобів. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1077282-20#Text>
- [7] СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 Лікарські засоби. Належна виробнича практика. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1023282-20?lang=uk#Text>
- [8] СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9). Вид. офіц. Київ, 2011. 35 с. URL : <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-4-2-2011/>
- [9] СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8). URL : <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-3-0-2011/>
- [10] Handbook of Pharmaceutical Excipients / eds. : P. J. Sheskey, W. G. Cook, C. G. Cable. 8th ed. London : American Pharmacists

- Association, Pharmaceutical Press, 2017. P. 110-772.
- [11] EU No 1223/2009. Commission Regulation (EU) on cosmetic products No 1223/2009. Official Journal of the European Union (30 November 2009). [https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/endocrine\\_disruptors/docs/cosmetic\\_1223\\_2009\\_regulation\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/default/files/endocrine_disruptors/docs/cosmetic_1223_2009_regulation_en.pdf)
- [12] Державна Фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 1. 1128 с.
- [13] Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics / B. Dréno, T. Zuberbier, C. Gelmetti et al. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. Vol. 33, Iss. S7, P. 15-24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15944>
- [14] Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) – Final version of the opinion on Phenoxyethanol in cosmetic products / W. Lilienblum ; Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*. 2016. Vol. 82. P. 156. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.007>

## References

- [1] *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy* [State Register of Medicines of Ukraine]. <http://www.driz.kiev.ua/>
- [2] *Normatyvno-dyrektyvni dokumenty MOZ Ukrainy* [Regulatory documents of the Ministry of Health of Ukraine]. <http://mozdocs.kiev.ua/liki.php/>
- [3] Popova, T. V., Strilets, O. P., & Kukhtenko, H. P. (2020). Obgruntuvannya vyboru konservanta ta yoho konsentratsii u skladi heliu protyalerhichnoi dii [Justification of preservative choice and its concentration in the composition of anti-allergic action gel]. *Farmatsevtichnyi Zhurnal*, 75(4), 78-87. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.08>
- [4] Pastor-Nieto, M. A., Alcántara-Nicolás, F., Melgar-Molero, V., Pérez-Mesonero, R., Vergara-Sánchez, A., Martín-Fuentes, A., González-Muñoz, P., & de Eusebio-Murillo, E. (2017). Preservatives in Personal Hygiene and Cosmetic Products, Topical Medications, and Household Cleaners in Spain. Conservantes en productos de higiene y cosméticos, medicamentos tópicos y productos de limpieza doméstica en España. *Actas dermo-sifiliograficas*, 108(8), 758-770. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.04.003>
- [5] Nowak, K., Jabłońska, E., & Ratajczak-Wrona, W. (2021). Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental research*, 198, 110488. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110488>
- [6] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-3.4:2020 Likarski zasoby. Nastanova z vyrobnytstva hotovykh likarskykh zasobiv* [ST-N MOH 42-3.4:2020 Drugs. Guideline on manufacture of the finished dosage form]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1077282-20#Text>
- [7] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-4.0:2020 Likarski zasoby. Nalezhna vyrobnycha praktyka* [ST-N MOH 42-4.0:2020 Drugs. Good manufacturing practice]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1023282-20?lang=en#Text>
- [8] Ministry of Health of Ukraine. (2020). *ST-N MOZU 42-4.2:2011 Likarski zasoby. Upravlinnia ryzykamy dlia yakosti (ICH Q9)* [ST-N MOHU 42-4.2:2011 Medicinal Products. Quality Risk Management (ICH Q9)]. <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-4-2-2011/> [in Ukrainian].
- [9] Ministry of Health of Ukraine. (2011). *ST-N MOZU 42-3.0:2011 Likarski zasoby. Farmatsevtichna rozrobka (ICH Q8)* [ST-N MOHU 42-3.0:2011 Medicinal Products. Pharmaceutical Development (ICH Q8)]. [in Ukrainian]. <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-3-0-2011/>
- [10] Sheskey, P. J., Cook, W. G., & Cable, C. G. (Eds.). (2017). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (8th ed.). American Pharmacists Association, Pharmaceutical Press.
- [11] Regulation (EC) No 1223/2009. European parliament and of the council of 30 November 2009 on cosmetic products (2009). *Official Journal of the European Union*, L 342/59-L 342/209. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:en:PDF>
- [12] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2014). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (2nd ed., Vol. 1). Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines

- Quality. [in Ukrainian].
- [13] Dréno, B., Zuberbier, T., Gelmetti, C., Gontijo, G., & Marinovich, M. (2019). Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(S7), 15-24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15944>
- [14] Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) & Lilienblum, W. (2016). Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) – Final version of the opinion on Phenoxyethanol in cosmetic products. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 82, 156. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.007>



## Порівняльне вивчення специфічної активності супозиторіїв ректальних із клопідогрелем

І. Л. Кечин <sup>ID</sup>1,B,C, В. В. Гладішев <sup>ID</sup>\*1,A, О. Л. Дроздов <sup>ID</sup>2,D, О. Б. Харапонова <sup>ID</sup>2,E, С. А. Гладішева <sup>ID</sup>1,F

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>Науково-дослідний інститут медико-біологічних проблем Дніпровського державного медичного університету, м. Дніпро, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Один із найефективніших препаратів для тромбоцитарної антиагрегації – клопідогрель, що пригнічує активацію тромбоцитів шляхом селективного зв'язування аденозиндифосфату (АДФ) зі специфічними рецепторами. У низці клінічних ситуацій необхідно отримати виражений антитромботичний ефект у максимально короткі терміни, що зумовлює інтерес до трансмукозного застосування препарату, зокрема ректального. Теоретичні передумови для розроблення питання щодо ректального шляху введення клопідогрелю базуються на даних про те, що антиагрегаційний ефект речовини здійснюється його основним метаболітом, який утворюється після «першого печінкового проходження», а саме клопідогрель у цьому аспекті не активний. Співробітники кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету на підставі комплексних фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних, реологічних і мікробіологічних досліджень запропонували раціональний склад ректальної лікарської форми клопідогрелю – супозиторіїв на гідрофільному носії для запобігання атеротромботичним подіям у пацієнтів з інфарктом міокарда, гострим коронарним синдромом, ішемічним інсультом, оклюзійною хворобою периферичних артерій.

**Мета роботи** – дослідження специфічної активності супозиторіїв ректальних із клопідогрелем.

**Матеріали та методи.** Як об'єкт доклінічних досліджень використали експериментальні супозиторії з клопідогрелем 0,075 г для ректального застосування. Здатність клопідогрелю послаблювати інгібувальну дію АДФ на активність аденілатциклази та зменшення кількості місць зв'язування для 2-метилтіо-АДФ (аналог АДФ) без зміни рецепторної афінності покладена в основу методики порівняльного вивчення його специфічної активності в ректальній лікарській формі (супозиторії) та референтного препарату Плавікс (SANOFI WINTHROP INDUSTRIE, Франція) у формі пероральних таблеток. Дослідження здійснили на білих нелінійних щурах обох статей масою 150–210 г та віком 3,5–5,0 місяця.

**Результати.** Встановили статистично значущі відмінності за інгібуванням індукованої агрегації тромбоцитів через 6 годин при ректальному введенні клопідогрелю та внутрішньошлунковому введенні референтного препарату, що свідчить про ефективність ректального аплікаційного трансмукозного введення цього активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ). На 5 добу введення препаратів інгібування індукованої агрегації тромбоцитів істотно збільшується, що збігається з даними фахової літератури про накопичувальний ефект клопідогрелю при щоденному вживанні. Виявили, що ректальне введення клопідогрелю ефективніше за пероральне та, ймовірно, пов'язане зі швидким доставленням АФІ в печінку й утворенням активного метаболіту клопідогрелю, який і має інгібувальний ефект щодо індукованої та спонтанної агрегації тромбоцитів у крові тварин і людини. Результати дослідження створюють підґрунтя для розроблення супозиторіїв ректальних із клопідогрелем, оскільки у клінічних умовах якнайшвидше досягнення антиагрегаційного ефекту в пацієнтів із гострим коронарним синдромом є першочерговим завданням клінічної фармакології та фармації.

**Висновки.** Встановили, що на біохімічній моделі патології аплікаційна м'яка лікарська форма клопідогрелю – ректальні супозиторії – має індувану антиагрегаційну активність, її введення не супроводжується побічними ефектами та небажаними явищами. Ректальні супозиторії з клопідогрелем характеризуються швидшим вірогідним антиагрегаційним ефектом порівняно з внутрішньошлунковим введенням.

**Ключові слова:** атеротромбоз, клопідогрель, супозиторії ректальні, специфічна активність.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 314–319**

### Comparative study of specific activity of rectal suppositories with clopidogrel

I. L. Kechyn, V. V. Hladyshev, O. L. Drozdov, O. B. Kharaponova, S. A. Hladysheva

One of the most effective platelet antiaggregants is clopidogrel, inhibiting platelet activation by selectively binding adenosine diphosphate (ADP) with specific receptors. However, in a number of clinical situations it is necessary to have a pronounced antithrombotic effect in the

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/242242>

UDC 615.454.032.07:615.224/.225].07  
DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.242242](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.242242)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 314–319

**Key words:** atherothrombosis, clopidogrel, rectal suppositories, specific activity.

\*E-mail: [gladishevvv@gmail.com](mailto:gladishevvv@gmail.com)

Received: 28.08.2021 // Revised: 20.09.2021 // Accepted: 07.10.2021

shortest possible time which gives rise to interest in the transmucosal use of the drug, in particular, rectal route. The theoretical preconditions for the development of a rectal administration of clopidogrel are based on the data that the anti-aggregation effect of a substance is carried out by its main metabolite formed after "first hepatic passage", while clopidogrel itself in this aspect is inactive. On the base of complex physico-chemical, pharmaceutical, biopharmaceutical, rheological and microbiological investigations, the rational composition of clopidogrel rectal dosage form – suppository on a hydrophilic base to prevent atherothrombotic events in patients with myocardial infarction, acute coronary syndrome, ischemic stroke, peripheral arterial occlusion, is proposed by the employees of the Department of Technology of Medications of the Zaporizhzhia State Medical University.

**The aim of the work** is to investigate the specific activity of rectal suppositories with clopidogrel.

**Materials and methods.** Experimental suppositories with clopidogrel 0,075 g for rectal administration were used as the objects in pre-line studies. The ability of clopidogrel to reduce the inhibitory effect of ADP on adenylate cyclase activity and decrease the number of binding sites for 2-methylthio-ADP (analogue of ADP) without altering the receptor topography is used as a base of the method of comparative study of its specific activity in the rectal dosage form (suppository) and in comparison with the reference medication Plavix (SANOFI WINTHROP INDUSTRIE, France) in the tablet form. Studies were performed on white non-linear rats of different sexes with different mass 150–210 g, aged 3.5–5.0 months.

**Results.** Statistically significant differences in the inhibition of induced platelet aggregation were registered after 6 hours of rectal administration of clopidogrel and gastric administration of the reference medication, indicating the effectiveness of the rectal applicative transmucosal route for this active pharmaceutical ingredient (API). On the 5<sup>th</sup> day of administration, inhibition of induced platelet aggregation significantly increased, and that is supported by literature on the cumulative effect of clopidogrel in daily life. When comparing the digital material of the table, it is obvious that the rectal administration of clopidogrel is more effective in comparison with oral route which is probably due to the rapid delivery of API to the liver and the formation of an active metabolite of clopidogrel inhibiting the induction and spontaneous aggregation of platelets in human's and animal's blood. Obtained data provide with sound arguments for development of rectal suppositories with clopidogrel because in clinical care faster achievement of an anti-aggregation effect in patients with acute coronary syndrome is the primary task of clinical pharmacology and pharmacy.

**Conclusions.** Using the biochemical model of pathology, it was established that the applicative semisolid medication of clopidogrel in the form of rectal suppository exhibited inductive anti-aggregation activity and its administration didn't reveal any side effects and undesirable events. Rectal suppositories with clopidogrel have been shown to exhibit faster reliable anti-aggregation effect in comparison with intragastric administration.

**Key words:** atherothrombosis, clopidogrel, rectal suppositories, specific activity.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 314–319**

---

### Сравнительное изучение специфической активности суппозитория ректальных с клопидогрелем

И. Л. Кечин, В. В. Гладышев, А. Л. Дроздов, Е. Б. Харапонова, С. А. Гладышева

Один из наиболее эффективных препаратов для тромбоцитарной антиагрегации – клопидогрель, угнетающий активацию тромбоцитов путем селективного связывания аденозиндифосфата (АДФ) со специфическими рецепторами. В ряде клинических ситуаций необходимо получить выраженный антиагрегационный эффект в максимально сжатые сроки, что обуславливает интерес к трансмукозному применению препарата, в частности ректальному. Теоретические предпосылки для разработки ректального пути введения клопидогреля базируются на данных о том, что антиагрегационный эффект вещества осуществляется его основным метаболитом, образующимся после «первого печёночного прохождения», тогда как сам клопидогрель в этом аспекте не активен. Сотрудники кафедры технологии лекарств Запорожского государственного медицинского университета на основании комплексных физико-химических, фармакотехнологических, биофармацевтических, реологических и микробиологических исследований предложили рациональный состав ректальной лекарственной формы клопидогреля – суппозитория на гидрофильном носителе для предотвращения атеротромботических событий у пациентов с инфарктом миокарда, острым коронарным синдромом, ишемическим инсультом, окклюзионной болезнью периферических артерий.

**Цель работы** – исследование специфической активности суппозитория ректальных с клопидогрелем.

**Материалы и методы.** Объект доклинических исследований – экспериментальные суппозитории с клопидогрелем 0,075 г для ректального введения. Способность клопидогреля ослаблять ингибирующее действие АДФ на активность аденилатциклазы и снижение числа мест связывания для 2-метилтио-АДФ (аналог АДФ) без изменения рецепторной аффинности положена в основу методики сравнительного изучения его специфической активности в ректальной лекарственной форме (суппозитории) и референтного препарата Плавикс («Санofi Винтроп Индастриа», Франция) в форме пероральных таблеток. Исследования провели на белых нелинейных крысах обоих полов массой 150–210 г и в возрасте 3,5–5,0 месяца.

**Результаты.** Установлены статистически значимые различия по ингибированию индуцируемой агрегации тромбоцитов через 6 часов при ректальном введении клопидогреля и при внутривенном введении референтного препарата, свидетельствующие об эффективности ректального аппликационного трансмукозного введения этого активного фармацевтического ингредиента (АФИ). На 5 сутки введения препаратов ингибирование индуцируемой агрегации тромбоцитов значительно увеличивается, что подтверждается данными научной литературы о накопительном эффекте клопидогреля при ежедневном употреблении. Отмечено, что ректальное введение клопидогреля эффективнее по сравнению с пероральным и, вероятно, связано с быстрой доставкой АФИ в печень и образованием активного метаболита клопидогреля, имеющего ингибирующий эффект относительно индуцируемой и спонтанной агрегации тромбоцитов в крови животных и человека. Результаты исследования дают весомые аргументы в пользу создания суппозитория ректальных с клопидогрелем, поскольку в клинических условиях более быстрое достижение антиагрегационного эффекта у пациентов с острым коронарным синдромом – первоочередное задание клинической фармакологии и фармации.



**Выводы.** Установлено, что на биохимической модели патологии аппликационная мягкая лекарственная форма клопидогреля в виде ректальных суппозиториях проявляет индуцируемую антиагрегационную активность, и ее введение не сопровождается побочными эффектами и нежелательными явлениями. Ректальные суппозитории с клопидогрелем проявляют более быстрый достоверный антиагрегационный эффект по сравнению с внутривенным введением.

**Ключевые слова:** атеротромбоз, клопидогрель, суппозитории ректальные, специфическая активность.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 314–319**

Серцево-судинні патології: ішемічна хвороба серця, мозку, оклюзивні захворювання периферичних артерій, – найчастіша причина захворюваності, смертності та інвалідизації населення України. В основі цих захворювань – єдиний патологічний процес, а саме атеротромбоз. Міцний взаємозв'язок атерогенезу та тромбоутворення патогенетично виправдовує призначення атеротромботичних препаратів і для лікування, і для первинної, вторинної профілактики. Тому нині доказова медицина вважає антитромботичні препарати ключовою ланкою стратегії профілактики ризику розвитку гострих судинних подій різного генезу [1,2].

Один із найефективніших препаратів для тромботичної антиагрегації – клопидогрель, що пригнічує активацію тромбоцитів шляхом селективного зв'язування аденозиндифосфату (АДФ) зі специфічними рецепторами. Клопидогрель має також сильний полівалентний антиагрегантний ефект на тромбоцити, і його застосування призводить до вірогідного зниження рівня тригліцеридів та оптимізації інших показників ліпідограма [3,4].

У низці клінічних ситуацій необхідно отримати виражений антитромботичний ефект у максимально короткі терміни, що зумовлює інтерес до трансмукозного застосування препарату, зокрема ректального.

Перевагою ректального шляху введення є те, що в цьому випадку лікарські засоби не зазнають впливу ферментів кишкового тракту та пресистемного метаболізму, оскільки більша частина лікарського засобу абсорбується й через нижні гемороїдальні вени надходить до системного кровотоку, минаючи печінку. Також цьому способу введення притаманний високий ступінь біологічної доступності, яка суттєво вища, ніж у разі перорального введення лікарських речовин [5,6].

Теоретичні передумови для розроблення ректального шляху введення клопидогрелю базуються на даних про те, що антиагрегаційний ефект речовини здійснюється його основним метаболітом, що утворюється після «першого печінкового проходження», а саме клопидогрель у цьому аспекті не активний. Отже, очікується, що прискорений транспорт субстанції в печінку пропорційно може прискорити початок розвитку первинної фармакологічної реакції метаболіту клопидогрелю.

Відомо, що ректальне введення активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) дає змогу безпосередньо транспортувати речовину по верхніх і середніх гемороїдальних венах, а по нижніх спочатку у великий круг кровообігу, після цього – в печінку. Розподіл лікарської речовини цими шляхами кровообігу дає можливість суттєво прискорити та пролонгувати тера-

певтичний ефект, а також, можливо, зменшити разову дозу щодо перорального введення внаслідок зменшення його втрат під час проходження травного тракту. Раніше встановлено, що після метаболічної активації в печінці при першому проходженні фармакологічні ефекти клопидогрелю опосередковують Р2-пуриноцетори (різновид Р2 YAC), які локалізуються на поверхні тромбоцитів [7].

У тромбоцитах здорових добровольців, які отримували клопидогрель у терапевтичній дозі (75 мг/добу), виявили послаблення інгібуючої дії АДФ на активність аденілатциклази та зменшення кількості місць зв'язування для 2-метилгіо-АДФ (аналог АДФ) без зміни його рецепторної афінності [8]. Клопидогрель не взаємодіє з пуриноцеторами тромбоцитів, що опосередковують мобілізацію внутрішньоклітинного кальцію (P2Y1) або приплив катіонів (P2X1), не запобігає зміні форми цих елементів крові, що спричинена АДФ [9]. У клінічних дослідженнях виявили низку позитивних ефектів клопидогрелю щодо активації та агрегації тромбоцитів. Встановили, що призначення клопидогрелю здоровим добровольцям упродовж 7–8 днів (75 мг/добу) інгібувало зв'язування фібриногену, що викликане АДФ, унаслідок послаблення активації рецепторного комплексу GP IIb/IIIa, не маючи на нього модифікувального впливу [10].

Співробітники кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету на підставі комплексних фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних, реологічних і мікробіологічних досліджень запропонували раціональний склад ректальної лікарської форми клопидогрелю – супозиторіїв на гідрофільному носії для запобігання атеротромботичним подіям у пацієнтів з інфарктом міокарда, гострим коронарним синдромом, ішемічним інсультом, оклюзійною хворобою периферичних артерій [11–13].

Необхідний елемент оцінювання безпеки в системі державної реєстрації потенційного лікарського засобу – система доклінічного вивчення нешкідливості та специфічної активності. Комплекс цих робіт здійснюється за рекомендованими Державним експертним центром МОЗ України моделями та методиками у дослідженнях *in vitro* та *in vivo*. Результати дають змогу оцінити токсичність розроблених лікарських засобів, обґрунтувати спосіб застосування, дозування та кратність введення препарату. Також доклінічні дослідження дають можливість прогнозувати ймовірність виникнення побічних ефектів від призначення фармакотерапевтичних засобів, визначити шляхи їхнього усунення або мінімізації [14,15].

## Мета роботи

Дослідження специфічної активності супозиторіїв ректальних із клопідогрелем.

## Матеріали і методи дослідження

Як об'єкт доклінічних досліджень використали експериментальні супозиторії з клопідогрелем 0,075 г для ректального застосування.

В основу методики порівняльного вивчення специфічної активності клопідогрелю в цьому дизайні експерименту покладена здатність клопідогрелю послаблювати інгібуючу дію АДФ на активність аденілатциклази та зменшення кількості місць зв'язування для 2-метилтіо-АДФ (аналог АДФ) без зміни його рецепторної афінності [16].

Дослідження виконали на білих нелінійних щурах обох статей, що отримані з розплідника лабораторних тварин «Албіс» (м. Київ). Маса щурів – 150–210 г, вік – 3,5–5,0 місяця.

Перед початком дослідження за допомогою методу рандомізації тварин поділили на 2 серії по 12 особин: дослідну та контрольну, яка отримувала референтний препарат Плавікс (SANOFI WINTHROP INDUSTRIE, Франція).

Субстанцію клопідогрелю вводили ректально в дозі 5 мг на 1 мл основи при температурі 37,5 °С. Референтний препарат вводили внутрішньошлунково в еквімолярній дозі.

Біоеквівалентність клопідогрелю та Плавіксу в лікарських формах порівнювали, враховуючи їхню первинну фармакологічну реакцію відповідно до динаміки змін індукованої АДФ агрегації тромбоцитів на піку дії препарату, яка настає через 6 годин після ректальної разової аплікації.

## Результати

Накопичувальний антиагрегаційний ефект визначали через 5 діб щоденного ректального введення дослідного препарату клопідогрелю та перорального застосування референтного препарату в таблетованій формі. Результати досліджень наведені в *таблиці 1*.

Встановили статистично значущі відмінності за інгібуванням індукованої агрегації тромбоцитів через 6 годин при ректальному введенні клопідогрелю та внутрішньошлунковому введенні референтного препарату, що свідчить про ефективність ректального аплікаційного трансмукозного введення цього АФІ. На 5 добу введення препаратів інгібування індукованої агрегації тромбоцитів істотно збільшується, що збігається з даними фахової літератури про накопичувальний ефект клопідогрелю при щоденному живанні [17].

## Обговорення

Порівнюючи цифрові дані, що наведені в *таблиці 1*, виявили, що ректальне введення клопідогрелю ефективніше за пероральне та, ймовірно, пов'язане зі швидким доставленням АФІ в печінку й утворенням активного метаболіту клопідогрелю, який і має інгібувальний ефект

**Таблиця 1.** Вплив ректальних супозиторіїв із клопідогрелем на АДФ-індуковану (5 мкМ) агрегацію тромбоцитів ( $\Delta\%$  інгібування агрегації тромбоцитів),  $M \pm m$

Час після введення	Клопідогрель супозиторії	Плавікс
6 год	44,6 $\pm$ 6,2*	40,4 $\pm$ 5,4
5 доба	67,7 $\pm$ 7,2*	58,8 $\pm$ 4,4*

\*:  $p < 0,05$ .

щодо індукованої та спонтанної агрегації тромбоцитів у крові тварин і людини. Результати дослідження створюють підґрунтя для розроблення супозиторіїв ректальних із клопідогрелем, оскільки у клінічних умовах якнайшвидше досягнення антиагрегаційного ефекту в пацієнтів із гострим коронарним синдромом – першочергове завдання клінічної фармакології та фармації.

## Висновки

1. Встановили, що на біохімічній моделі патології аплікаційна м'яка лікарська форма клопідогрелю – ректальні супозиторії – має індуковану антиагрегаційну активність, її введення не супроводжується побічними ефектами та небажаними явищами.

2. Ректальні супозиторії з клопідогрелем характеризуються швидшим вірогідним антиагрегаційним ефектом порівняно з внутрішньошлунковим введенням.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у продовженні доклінічних досліджень супозиторіїв ректальних із клопідогрелем.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження фармакотерапевтичних систем трансмукозної доставки лікарських речовин», № держреєстрації 0112U005635.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Кечин І. Л., д-р мед. наук, доцент каф. внутрішніх хвороб 1 і симуляційної медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1446-8179](https://orcid.org/0000-0002-1446-8179)

Гладишев В. В., д-р фарм. наук, зав. каф. технології ліків, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-5935-4856](https://orcid.org/0000-0001-5935-4856)

Дроздов О. Л., д-р мед. наук, професор, головний науковий співробітник, Науково-дослідний інститут медико-біологічних проблем Дніпровського державного медичного університету, м. Дніпро, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6081-2295](https://orcid.org/0000-0001-6081-2295)

Харапонова О. Б., канд. мед. наук, науковий співробітник, Науково-дослідний інститут медико-біологічних проблем Дніпровського державного медичного університету, м. Дніпро, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6854-5539](https://orcid.org/0000-0002-6854-5539)

Гладишева С. А., канд. фарм. наук, асистент каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4595-9445](https://orcid.org/0000-0003-4595-9445)

**Information about authors:**

Kechyn I. L., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Internal Diseases 1 and Simulation Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Hladyshev V. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Medicinal Preparations Technology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Drozdov O. L., PhD, DSc, Professor, Main Research Worker, Institute of Medical and Biological Problems, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Kharaponova O. B., PhD, Research Worker, Institute of Medical and Biological Problems, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Hladysheva S. A., PhD, Assistant of the Department of Pharmacognosy, Pharmaceutical Chemistry and Technology of Medications, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Сведения об авторах:**

Кечин И. Л., д-р мед. наук, доцент каф. внутренних болезней 1 и симуляционной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гладышев В. В., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. технологии лекарств, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Дроздов А. Л., д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медико-биологических проблем Днепровского государственного медицинского университета, Украина.

Харапонова Е. Б., канд. мед. наук, научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медико-биологических проблем Днепровского государственного медицинского университета, Украина.

Гладышева С. А., канд. фарм. наук, ассистент каф. управления, экономики фармации и фармацевтической технологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Список літератури**

[1] Therapeutic strategies for atherosclerosis and atherothrombosis: Past, present and future / C. Weber, L. Badimon, F. Mach, E. van der Vorst. *Thrombosis and haemostasis*. 2017. Vol. 117, Iss. 7. P. 1258-1264. <https://doi.org/10.1160/TH16-10-0814>

[2] Grover S. P., Mackman, N. Tissue factor in atherosclerosis and atherothrombosis. *Atherosclerosis*. 2020. Vol. 307. P. 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.06.003>

[3] Peripheral artery disease and antiplatelet treatment / V. Tsigkou, G. Siasos, K. Rovos et al. *Current opinion in pharmacology*. 2018. Vol. 39. P. 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.01.011>

[4] The Role of Clopidogrel in 2020: A Reappraisal / G. Patti, G. Micieli, C. Cimminiello, L. Bolognese. *Cardiovascular therapeutics*. 2020. Vol. 2020. P. 8703627. <https://doi.org/10.1155/2020/8703627>

[5] Purohit T. J., Hanning S. M., Wu Z. (2018). Advances in rectal drug delivery systems. *Pharmaceutical development and technology*. Vol. 23, Iss. 10. P. 942-952. <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1484766>

[6] Hua S. Physiological and Pharmaceutical Considerations for Rectal Drug Formulations. *Frontiers in pharmacology*. 2019. Vol. 10. 1196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01196>

[7] Flavonolignans inhibit ADP induced blood platelets activation and aggregation in whole blood / M. Bijak, R. Szelenberger, J. Saluk, P. Nowak. *International journal of biological macromolecules*. 2017. Vol. 95. P. 682-688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.002>

[8] Pharmacokinetic drug interactions with clopidogrel: updated review and risk management in combination therapy / Z. Y. Wang, M. Chen, L. L. Zhu et al. *Therapeutics and clinical risk management*. 2015. Vol. 11. P. 449-467. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S80437>

[9] The Effect of Combined Aspirin and Clopidogrel Treatment on Cancer Incidence / A. Leader, R. Zelikson-Saporta, D. Pereg et al. *The American journal of medicine*. 2017. Vol. 130, Iss. 7. P. 826-832. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.01.022>

[10] Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel / X. L. Jiang, S. Samant, L. J. Lesko, S. Schmidt. *Clinical pharmacokinetics*. 2015. Vol. 54, Iss. 2. P. 147-166. <https://doi.org/10.1007/s40262-014-0230-6>

[11] Вивчення впливу допоміжних речовин на вивільнення клопидогрелю з ректальних супозиторіїв / Є. А. Редькіна, В. В. Гладышев, Б. С. Бурлака, І. О. Пухальська. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11, № 1. С. 74-78. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123717>

[12] Редькіна Е. А., Гладышев В. В., Бурлака Б. С. Изучение структурно-механических свойств суппозитория с клопидогрелем. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11, № 3. С. 281-285. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.3.145218>

[13] Вивчення впливу концентрації поверхнево-активних речовин на вивільнення клопидогрелю з ректальних супозиторіїв / Є. А. Редькіна, В. В. Гладышев, Б. С. Бурлака, І. Л. Кечин. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11, № 2. С. 185-189. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.2.133214>

[14] Савленко Е. А., Ткаченко Е. В. Значение управления рисками для качества на этапе доклинических исследований лекарственного препарата. Управління якістю в фармації : матеріали XI наук.-практ. конф. (19 травня 2017 р., м. Харків). Харків : Вид-во НФаУ, 2017. С. 152.

[15] Национальные особенности доклинических исследований и использования лабораторных животных в России: проблемы и перспективы / А. Н. Мурашев, В. С. Попов, М. С. Красильщикова и др. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015. № 2. С. 35-39.

[16] Изучение нового производного бензимидазола, имеющего в своей структуре пространственно затрудненный фенольный заместитель, на моделях артериального и венозного тромбоза / А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, К. А. Гайдукова и др. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2020. № 3. С. 62-66. <https://doi.org/10.25555/THR.2020.3.0930>

[17] Clopidogrel: the future choice for preventing platelet activation during coronary stenting? / P. A. Gurbel, C. M. O'Connor, C. C. Cummings, V. L. Serebruanu. *Pharmacological research*. 1999. Vol. 40, Iss. 2. P. 107-111. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0478>

**References**

[1] Weber, C., Badimon, L., Mach, F., & van der Vorst, E. (2017). Therapeutic strategies for atherosclerosis and atherothrombosis: Past, present and future. *Thrombosis and haemostasis*, 117(7), 1258-1264. <https://doi.org/10.1160/TH16-10-0814>

[2] Grover, S. P., Mackman, N. (2020). Tissue factor in atherosclerosis and atherothrombosis. *Atherosclerosis*, 307, 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.06.003>

[3] Tsigkou, V., Siasos, G., Rovos, K., Tripyla, N., Tousoulis, D. (2018). Peripheral artery disease and antiplatelet treatment. *Current opinion in pharmacology*, 39, 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2018.01.011>

[4] Patti, G., Micieli, G., Cimminiello, C., & Bolognese, L. (2020). The Role of Clopidogrel in 2020: A Reappraisal. *Cardiovascular therapeutics*, 2020, 8703627. <https://doi.org/10.1155/2020/8703627>

[5] Purohit, T. J., Hanning, S. M., & Wu, Z. (2018). Advances in rectal drug delivery systems. *Pharmaceutical development and technology*, 23(10), 942-952. <https://doi.org/10.1080/10837450.2018.1484766>

[6] Hua S. (2019). Physiological and Pharmaceutical Considerations for Rectal Drug Formulations. *Frontiers in pharmacology*, 10, 1196. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01196>

[7] Bijak, M., Szelenberger, R., Saluk, J., & Nowak, P. (2017). Flavonolignans inhibit ADP induced blood platelets activation and aggregation in whole blood. *International journal of biological macromolecules*, 95, 682-688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.002>

[8] Wang, Z. Y., Chen, M., Zhu, L. L., Yu, L. S., Zeng, S., Xiang, M. X., & Zhou, Q. (2015). Pharmacokinetic drug interactions with clopidogrel: updated review and risk management in combination therapy. *Therapeutics and clinical risk management*, 11, 449-467. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S80437>

[9] Leader, A., Zelikson-Saporta, R., Pereg, D., Spectre, G., Rozovski, U., Raanani, P., Hermoni, D., & Lishner, M. (2017). The Effect of Combined Aspirin and Clopidogrel Treatment on Cancer Incidence. *The American journal of medicine*, 130(7), 826-832. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.01.022>

[10] Jiang, X. L., Samant, S., Lesko, L. J., & Schmidt, S. (2015). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel. *Clinical pharmacokinetics*, 54(2), 147-166. <https://doi.org/10.1007/s40262-014-0230-6>

[11] Redkina, Ye. A., Gladyshev, V. V., Burlaka, B. S., & Pukhalskaya, I. A. (2018). Vyvchennia vplyvu dopomizhnykh rechovyv na vyvillennia

- klopidohreliu z rektalnykh supozytoryiiv [The study of excipients' influence on Clopidogrel releasing from the rectal suppositories]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 11(1), 74-78. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123717>
- [12] Redkina, Ye. A., Hladyshev, V. V., & Burlaka, B. S. (2018). Izuchenie strukturno-mekhanicheskikh svoystv supozitoriev s klopidogrelem [The study of structural-mechanical characteristics of suppositories with clopidogrel]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 11(3), 281-285. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.3.145218>
- [13] Redkina, Ye. A., Gladyshev, V. V., Burlaka, B. S., Kechin, I. L. (2018). Vychennia vplyvu kontsentratsii poverkhnevo-aktyvnykh rehovyn na vyvilnennia klopidohreliu z rektalnykh supozytoryiiv [Study of influence of the surface-active substances concentration on releasing of clopidogrel from the rectal suppository]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 11(2), 185-189. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.2.133214>
- [14] Savlenko, E. A. & Tkachenko, E. V. (2017). Znachenie upravleniya riskami dlya kachestva na etape doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennogo preparata [Importance of risk management for quality at the stage of preclinical studies of a medicinal product]. *Upravlinnia yakistiu v farmatsii*. Proceedings of the 11th scientific-practical conference (pp. 152). Kharkiv: NfaU. [in Russian].
- [15] Murashev, A. N., Popov, V. S., Krasilshchikova, M. S., Zharmukhamedova, T. Yu., Rzhavskiy, D. I., & Khokhlova, O. N. (2015). Natsional'nye osobennosti doklinicheskikh issledovaniy i ispol'zovaniya laboratornykh zhivotnykh v Rossii: problemy i perspektivy [National characteristics of preclinical studies and use of laboratory animals in Russia: problems and prospects]. *Vedomosti Naucnogo centra ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya*, (2), 35-39. [in Russian].
- [16] Spasov, A. A., Kucheryavenko, A. F., Gaidukova, K. A., Sirotenko, V. C. & Zhukovskaya, O. N. (2020). Izuchenie novogo proizvodnogo benzimidazola, imeyushchego v svoei strukture prostranstvenno zatrudnennyi fenol'nyi zamestitel', na modelyakh arterial'nogo i venoznogo tromboza [Study of a new benzimidazole derivative having in its structure a sterically hindered phenolic substituent on models of arterial and venous thrombosis]. *Thromboz, gemostaz i reologiya*, (3), 62-66. [in Russian]. <https://doi.org/10.25555/THR.2020.3.0930>
- [17] Gurbel, P. A., O'Connor, C. M., Cummings, C. C., & Serebruany, V. L. (1999). Clopidogrel: the future choice for preventing platelet activation during coronary stenting? *Pharmacological research*, 40(2), 107-111. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0478>





# Синтез і дослідження протипухлинної активності деяких нових 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів

I. I. Мирко<sup>1</sup> ID 1,A,B,C,D,F, Т. І. Чабан<sup>1</sup> ID \*1,A,C,D,F, В. В. Огурцов<sup>1</sup> ID 1,A,D,E, І. В. Драпак<sup>1</sup> ID 1,A,D,F, В. С. Матійчук<sup>1</sup> ID 2,A,D,E,F

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна, <sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Пошук ефективних малотоксичних протипухлинних засобів – одна з найважливіших проблем у сучасній медицині та фармації. Незважаючи на великий вибір протипухлинних препаратів і різноманітність механізмів їхньої дії, ефективність наявних препаратів залишається недостатньою. Серед численних природних і синтетичних гетероциклічних сполук, які мають протипухлинну активність, усе більший інтерес викликають похідні 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, що здатні до ініціації різних шляхів загибелі пухлинних клітин. Тому актуальним є синтез нових похідних цього класу сполук і вивчення їхніх протипухлинних властивостей.

**Мета роботи** – синтез нових 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів і дослідження їхньої протипухлинної активності.

**Матеріали та методи.** Використали методики органічного синтезу, фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопія, елементний аналіз).

**Результати.** Для отримання нових 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів здійснили взаємодію 4-аміно-4*H*-[1,2,4]тріазол-3-тіолів із відповідними бромоацетофенонами. Реакція перебігає під час нагрівання названих реагентів у спирті з закриттям тіадіазинового циклу та формуванням 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинової системи. Структура всіх синтезованих сполук підтверджена методом ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопії та даними елементного аналізу.

Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали в рамках міжнародної наукової програми DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (NCI, Бетезда, Мериленд, США). Встановили, що синтезовані сполуки характеризувалися протипухлинною дією різного рівня. Найактивнішою серед речовин, що тестували, виявилася сполука 3j із середнім значенням GP 28.73. Найчутливішими до неї були лінії меланоми MDA-MB-435 і SK-MEL-2, раку нирок A498 і RXF 393, раку ЦНС SNB-75 і недрібноклітинного раку легень NCI-H522. Вторинний етап досліджень цієї сполуки підтвердив її високу протипухлинну активність щодо більшості ліній ракових клітин.

**Висновки.** У результаті взаємодії 4-аміно-4*H*-[1,2,4]тріазол-3-тіолів із відповідними бромоацетофенонами отримали серію нових не описаних у фаховій літературі тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів. Тестування синтезованих сполук на протипухлинну активність дало змогу виділити високоактивну сполуку з вираженим протипухлинним ефектом, яка за показниками активності наближається або перевершує відомі лікарські засоби 5-фторурацил (5-FU) та цисплатин, а також речовину протипухлинної дії куркумін.

**Ключові слова:** органічний синтез, ЯМР-спектроскопія, тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини, протипухлинна активність.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 320–327**

## Synthesis and study of the anticancer activity of some new 7*H*-[1,2,4]triazolo [3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines

I. I. Myrko, T. I. Chaban, V. V. Ohurtsov, I. V. Drapak, V. S. Matiichuk

The problem of finding effective low-toxic anticancer agents is one of the most important in modern medicine and pharmacy. Despite a large selection of anticancer drugs and a variety of mechanisms of their action, the effectiveness of existing drugs continues to be insufficient. Among the numerous natural and synthetic heterocyclic compounds that exhibit anticancer activity, 7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine derivatives, which are able to initiate different pathways of tumor cell death. Based on this, the synthesis of new derivatives of this class of compounds and the study of their anticancer properties is relevant.

**The aim of the work** is to synthesis of new 7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines and study their anticancer activity.

**Materials and methods.** It was used methods of organic synthesis, physical and chemical methods of analysis organic compounds (<sup>1</sup>H NMR spectroscopy, elemental analysis).

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/240361>

UDC 615.012.1:547.789.1

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.240361](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.240361)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 320–327

**Key words:** organic synthesis, NMR spectroscopy, triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines, anticancer activity.

\*E-mail: [chabantaras@ukr.net](mailto:chabantaras@ukr.net)

Received: 02.09.2021 // Revised: 15.09.2021 // Accepted: 01.10.2021

**Results.** In order to obtain new 7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines, the interaction implemented of 4-amino-4H-[1,2,4]triazole-3-thiols with the corresponding bromoacetophenones. The reaction proceeds by heating the above reagents in alcohol with the closure of the thiadiazine ring and the formation of 7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine systems. The structure of all synthesized compounds was confirmed by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and elemental analysis data.

The study of the anticancer activity of the synthesized compounds was carried out in the framework of the international scientific program DTP (Developmental Therapeutics Program) of the National Cancer Institute (NCI, Bethesda, Maryland, USA). It was found that the synthesized compounds exhibited different levels of anticancer activity. The most active among the tested substances was compound 3j with an average GP value of 28.73. The most sensitive to it were the lines of melanoma MDA-MB-435 and SK-MEL-2, kidney cancer A498 and RXF 393, CNS cancer SNB-75, and non-small cell lung cancer NCI-H522. The secondary stage of studies of this compound confirmed its high anticancer activity against most cancer cell lines.

**Conclusions.** As a result of the interaction of 4-amino-4H-[1,2,4]triazole-3-thiols with the relevant bromoacetophenones, a series of new triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines was not described in the literature was synthesized. Testing the synthesized compounds for the antitumor activity made it possible to isolate 1 highly active compound with a pronounced anticancer effect, which in terms of activity approaches or exceeds the known drugs 5-fluorouracil (5-FU) and cisplatin, as well as an anticancer agent, curcumin.

**Key words:** organic synthesis, NMR spectroscopy, triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines, anticancer activity.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 320–327**

### Синтез и исследование противоопухолевой активности некоторых новых 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов

И. И. Мирко, Т. И. Чабан, В. В. Огурцов, И. В. Драпак, В. С. Матийчук

Поиск эффективных малотоксичных противоопухолевых средств – одна из важнейших проблем в современной медицине и фармации. Несмотря на большой выбор противоопухолевых препаратов и разнообразие механизмов их действия, эффективность существующих препаратов остаётся недостаточной. Среди многочисленных природных и синтетических гетероциклических соединений, которые проявляют противоопухолевую активность, всё больший интерес вызывают производные 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазина, которые способны к инициации различных путей гибели опухолевых клеток. Таким образом, актуален синтез новых производных указанного класса соединений и изучение их противоопухолевых свойств.

**Цель работы** – синтез новых 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов и исследования их противоопухолевой активности.

**Материалы и методы.** Использовали методики органического синтеза, физические и физико-химические методы анализа органических соединений (ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопия, элементный анализ).

**Результаты.** Для получения новых 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов осуществлено взаимодействие 4-амино-4H-[1,2,4]триазол-3-тиолов с соответствующими бромацетофенонами. Реакция проходит при нагревании названных реагентов в спирте с закрытием тиадиазинового цикла и формированием 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазиновой системы. Структура всех синтезированных соединений подтверждена методом ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии и данными элементного анализа.

Противоопухолевую активность синтезированных соединений изучали в рамках международной научной программы DTP (Developmental Therapeutic Program) Национального института рака (NCI, Бетезда, Мэриленд, США). Установлено, что синтезированные соединения проявили противоопухолевое действие разного уровня. Самым активным среди тестируемых веществ оказалось соединение 3j со средним значением GP 28.73. Наиболее чувствительными к ней были линии меланомы MDA-MB-435 и SK-MEL-2, рака почек A498 и RXF 393, рака ЦНС SNB-75 и немелкоклеточного рака лёгких NCI-H522. Вторичный этап исследований этого соединения подтвердил его высокую противоопухолевую активность в отношении большинства линий раковых клеток.

**Выводы.** В результате взаимодействия 4-амино-4H-[1,2,4]триазол-3-тиолов с соответствующими бромацетофенонами получена серия новых не описанных в научной литературе триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов. Тестирование синтезированных соединений на противоопухолевую активность позволило выделить высокоактивное соединение с выраженным противоопухолевым эффектом, которое по показателям активности приближается или превышает известные лекарственные средства 5-фторурацил (5-FU) и цисплатин, а также вещество противоопухолевого действия куркумин.

**Ключевые слова:** органический синтез, ЯМР-спектроскопия, триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазины, противоопухолевая активность.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 320–327**

Онкологічні захворювання – одна з найактуальніших проблем сучасної медицини та фармації [1]. Сучасний стан терапії раку такий, що пошук нових підходів до лікування відбувається без революційних проривів. Незважаючи на наявність у клінічній практиці понад 100 протипухлинних лікарських засобів, ефективність більшості з них недостатня. Спектр онкологічних захворювань, що чутливі до хіміотерапії, обмежений. Більшість сполук, що отримали, клінічно не застосовують через високу токсичність, погану розчинність у воді, невибіркувану дію та низку інших побічних ефектів [2]. Тому залишається

актуальним питання щодо розроблення нових активніших лікарських засобів.

Понад 60 % лікарських засобів, котрі нині використовують, належать до гетероциклических сполук [3], і тому цей напрям швидко розвивається та є актуальним. Конденсовані нітрогеновмісні гетероциклическі системи викликають науковий інтерес через широкий спектр фармакологічної активності [4]. Дослідження 7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тиадиазинов – не виняток. Успішно вивчають протипухлинну [5–8], протизапальну [9], антиконвульсантну [10], антимікробну [11–14], протитуберкульозну [15] й

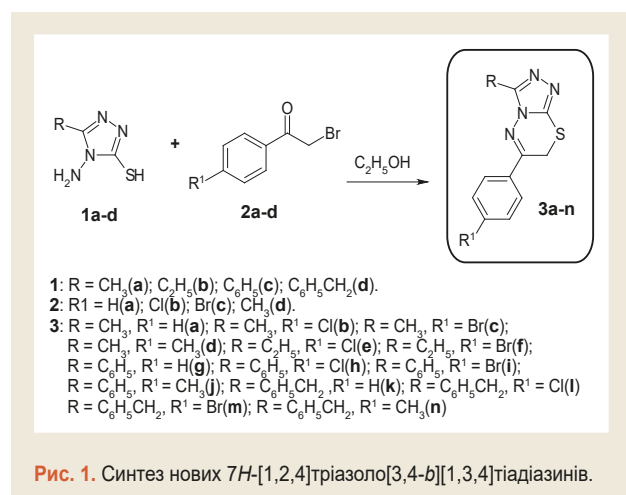


Рис. 1. Синтез нових 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів.

антиоксидантну [16] активності цього класу сполук. Тому пошук нових протипухлинних агентів серед названого класу сполук – цікавий та актуальний напрям.

## Мета роботи

Синтез нових 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів і дослідження їхньої протипухлинної активності.

## Матеріали і методи дослідження

Застосували методики органічного синтезу, фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопія, елементний аналіз).

## Результати

**Хімічна частина.** Продовжуючи систематичне вивчення нітрогеновмісних гетероциклів як потенційних біологічно активних речовин [17–20], здійснили синтез нових не описаних у фаховій літературі 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів для наступного скринінгу на протипухлинну активність. Для цього вивчили взаємодію 4-аміно-4H-[1,2,4]тріазол-3-іолів **1a-d** [21] з бромоацетофенонами **2a-d**. Виявили, що під час нагрівання названих реагентів у спирті відбувається закриття тіадіазинового циклу з формуванням складнодоступної 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинової системи **3a-n**.

Індивідуальність і структура синтезованих сполук підтверджені методами кількісного елементного аналізу, спектроскопією ЯМР. Інтерпретація спектрів дала змогу встановити, що сигнали для протонів усіх структурних одиниць спостерігали в їхніх характерних діапазонах.

**Фармакологічна частина.** Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали в Національному інституті раку (NCI, Бетезда, Мериленд, США) в рамках наукової програми DTP (Developmental Therapeutic Program). *In vitro* дослідження здійснили на 60 лініях клітин, що охоплюють більшість пухлинних захворювань людини в концентрації речовини 10<sup>-5</sup> моль/л. Розрахований відсоток росту клітин ліній раку (GP, %) порівняно з

Таблиця 1. Цитотоксичність сполук **3a-n** на 60 ліній ракових клітин (концентрація 10<sup>-5</sup> M)

№	Середня мітотична активність 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активності 60 ліній, %	Найчутливіші лінії клітин і мітотична активність, GP %
<b>3a</b>	102.28	80.30–120.14	HOP-92 Недрібноклітинний рак легень 80.30
<b>3b</b>	100.24	86.63–115.39	UO-31 Рак нирок 86.63
<b>3c</b>	99.17	84.11–121.12	CAKI-1 Рак нирок 84.11 UO-31 Рак нирок 86.94
<b>3d</b>	98.84	82.74–112.57	CAKI-1 Рак нирок 82.74
<b>3e</b>	97.90	83.17–114.33	UO-31 Рак нирок 83.17
<b>3f</b>	97.21	77.12–110.41	CAKI-1 Рак нирок 77.12 TK-10 Рак нирок 85.16 UO-31 Рак нирок 75.27
<b>3g</b>	99.07	58.67–119.56	HOP-92 Недрібноклітинний рак легень 58.67 UO-31 Рак нирок 73.84
<b>3h</b>	95.30	54.90–116.00	RXF 393 Рак нирок 54.90 UO-31 Рак нирок 67.32 SF-539 Рак ЦНС 68.50 SNB-19 Рак ЦНС 75.13
<b>3i</b>	101.42	73.68 – 120.14	UO-31 Рак нирок 73.68 RXF 393 Рак нирок 78.45
<b>3j</b>	28.73	-22.15–76.18	MDA-MB-435 Меланома -14.80 SK-MEL-2 Меланома -14.80 A498 Рак нирок -12.43 RXF 393 Рак нирок -6.84 SNB-75 Рак ЦНС -4.24 NCI-H522 Недрібноклітинний рак легень -2.45
<b>3k</b>	99.31	79.35–116.39	A498 Рак нирок 79.35 UO-31 Рак нирок 79.97 UACC-62 Меланома 83.48
<b>3l</b>	96.46	65.64–115.57	UO-31 Рак нирок 65.64 RXF 393 Рак нирок 70.10 SNB-19 Рак ЦНС 78.15
<b>3m</b>	92.53	54.87 – 113.10	OVCAR-8 Рак нирок 54.87 UO-31 Рак нирок 60.12 T-47D Рак молочної залози 64.65
<b>3n</b>	87.48	53.81–101.40	SR Лейкемія 53.81 MDA-MB-435 Меланома 57.97 K-562 Лейкемія 60.04 UO-31 Рак нирок 64.36

контролем був кількісним критерієм активності сполук [22]. Результати вивчення протипухлинної активності наведені в таблиці 1.

Встановлено, що синтезовані сполуки показали протипухлинну дію різного рівня. Сполуки **3a-f** з алкільним радикалом у 3 положенні 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинової системи майже не мали протипухлинної активності. Сполуки з фенільним і бензольним радикалами активніші. Найкращою дією характеризувалася сполука **3j** із середнім значенням GP 28.73. Найчутливішими до неї були лінії меланоми MDA-MB-435 і SK-MEL-2, раку нирок A498 і RXF 393, раку ЦНС SNB-75 та недрібноклітинного раку легень NCI-H522.

Таблиця 2. *In vitro* дослідження протипухлинної активності сполуки 3j на 60 лініях ракових клітин при градієнті концентрацій 10<sup>-4</sup>–10<sup>-8</sup>M

Хвороба	Лінія клітин раку	GI <sub>50</sub> , μM	TGI, μM	Хвороба	Лінія клітин раку	GI <sub>50</sub> , μM	TGI, μM	
Лейкемія	CCRF-CEM	1,66	>100	Меланома	LOX IMVI	0,838	>100	
	HL-60(TB)	0,333	>100		MALME-3M	>100	>100	
	K-562	0,321	>100		M14	0,435	>100	
	MOLT-4	0,461	>100		MDA-MB-435	0,196	0,459	
	RPMI-8226	0,895	>100		SK-MEL-2	0,921	96,9	
	SR	0,251	>100		SK-MEL-28	27,4	>100	
Недрібноклітинний рак легень	A549/ATCC	0,702	>100		SK-MEL-5	0,595	>100	
	EKVX	6,84	>100		UACC-257	>100	>100	
	HOP-62	1,23	>100		UACC-62	0,536	>100	
	HOP-92	2,58	>100		Рак яєчників	IGROV1	0,801	>100
	NCI-H226	3,45	>100			OVCAR-3	–	–
	NCI-H23	2,18	>100			OVCAR-4	6,28	>100
	NCI-H322M	5,16	>100	OVCAR-5		2,57	>100	
	NCI-H460	0,389	50,0	OVCAR-8		1,78	84,6	
NCI-H522	0,440	2,54	NCI/ADR-RES	0,262		0,882		
Епітеліальний рак кишківника	COLO 205	0,492	24,5	SK-OV-3		1,76	>100	
	HCC-2998	1,04	>100	Рак нирок		786-0	6,02	>100
	HCT-116	0,428	>100		A498	0,445	5,23	
	HCT-15	0,416	>100		ACHN	3,27	>100	
	HT29	0,411	3,53		CAKI-1	0,750	>100	
	KM12	17,3	>100		RXF 393	1,87	19,7	
	SW-620	0,378	>100		SN12C	0,799	>100	
Рак ЦНС	SF-268	6,37	>100		TK-10	54,1	>100	
	SF-295	0,844	>100	UO-31	2,15	>100		
	SF-539	0,925	4,76	Рак молочної залози	MCF7	1,60	>100	
	SNB-19	3,50	>100		MDA-MB-231/ATCC	0,497	>100	
	SNB-75	0,392	5,27		HS 578T	1,20	25,6	
	U251	0,528	>100		BT-549	0,385	>100	
Рак простати	PC-3	0,815	>100		T-47D	0,869	>100	
	DU-145	2,85	>100		MDA-MB-468	1,69	8,08	

Сполуку 3j обрали для вторинного етапу досліджень, що передбачав тестування на 60 лініях ракових клітин у п'яти концентраціях при 10-разовому розведенні (100 μM, 10 μM, 1 μM, 0,1 μM та 0,01 μM) за стандартною процедурою NCI [22].

Грунтуючись на експериментальних даних *in vitro* скринінгу сполук, розрахували 3 дозозалежні параметри:

- GI<sub>50</sub> – концентрація, що викликає пригнічення росту 50 % клітин лінії;
- TGI – концентрація сполуки, що спричиняє повне пригнічення росту;
- LC<sub>50</sub> – концентрація речовини, що призводить до 50 % загибелі клітин.

Показник GI<sub>50</sub> інтерпретують як ефективний рівень інгібування, TGI – як цитостатичний ефект, а LC<sub>50</sub> – летальна концентрація, що характеризує цитотоксичну дію. Якщо значення параметрів (GI<sub>50</sub>, TGI та LC<sub>50</sub>) менше ніж 100 μM, сполуки визначають як активні (щодо цієї лінії).

Результати ґрунтового *in vitro* скринінгу сполуки 3j наведені в таблиці 2. Аналіз підтвердив високу протипухлинну активність цієї сполуки щодо більшості ліній ракових клітин, про це свідчить показник середнього значення GI<sub>50</sub>, що становить 5,297.

Під час наступного етапу дослідження протипухлинної активності розрахували індекс селективності (SI) ефекту сполук на рівні дієвого інгібування – відношення серед-



Таблиця 3. Селективність дії сполуки 3j на окремі види захворювань на рівні GI<sub>50</sub>

Сполука	Параметр	Вид раку								
		Л	НДКРЛ	ЕПК	РЦНС	М	РЯ	РН	РП	РМЗ
3j	GI <sub>50</sub>	0,654	2,552	2,924	2,093	25,658	2,242	8,676	1,833	1,040
	SI	8,099	2,076	1,812	2,531	0,206	2,363	0,611	2,890	5,093

Л: лейкемія; НДКРЛ: недрібноклітинний рак легень; ЕПК: епітеліальний рак кишківника; РЦНС: рак ЦНС; М: меланома; РЯ: рак яєчників; РН: рак нирки; РП: рак простати; РМЗ: рак молочної залози.

Таблиця 4. Порівняння протипухлинної дії сполуки 3j з лікарськими засобами

Сполука	Вид раку									
	Л	НДКРЛ	ЕПК	РЦНС	М	РЯ	РН	РП	РМЗ	MG-MID
3j	0,654	2,552	2,924	2,093	25,658	2,242	8,676	1,833	1,040	5,297
5-фторурацил	15,1	>100	8,4	72,1	70,6	61,4	45,6	22,7	76,4	52,5
Цисплатин	6,3	9,4	21,0	4,7	8,5	6,3	10,2	5,6	13,3	9,48
Куркумін	3,7	9,2	4,7	5,8	7,1	8,9	10,2	11,2	5,9	7,41

Л: лейкемія; НДКРЛ: недрібноклітинний рак легень; ЕПК: епітеліальний рак кишківника; РЦНС: рак ЦНС; М: меланома; РЯ: рак яєчників; РН: рак нирки; РП: рак простати; РМЗ: рак молочної залози.

нього значення показника активності MID GI<sub>50</sub> для всіх ліній ракових клітин до середнього значення відповідного показника для окремого виду захворювання. Індекс селективності в межах 3–6 трактує як помірну селективність, значення SI >6 свідчить про високу селективність протипухлинного ефекту [22]. Параметри активності досліджених сполук наведені у таблиці 3. Висока селективність характерна в разі лейкемії, помірні – раку молочної залози.

У таблиці 4 наведені результати порівняння протипухлинної дії сполуки 3j із відомими лікарськими засобами – 5-фторурацилом (5-FU), цисплатином, а також природною речовиною протипухлинної дії куркуміном. Виявили, що протипухлинна активність сполуки 3j на рівні GI істотно перевершує таку для 5-фторурацилу, зіставна з цисплатином і куркуміном.

## Обговорення

Отже, шляхом взаємодії 4-аміно-4H-[1,2,4]тріазол-3-тіолів із відповідними бромоацетофенонами отримали серію нових тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів. У результаті фармакологічних досліджень на протипухлинну активність новосинтезованих 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів встановили: тестовані сполуки характеризуються різною протипухлинною активністю – від майже повної відсутності до виразного протипухлинного ефекту. Так, протипухлинна активність сполуки 3j на рівні GI істотно вища за таку для 5-фторурацилу, зіставна з цисплатином та куркуміном.

### Експериментальна частина

**Хімічна частина.** На спектрометрі Varian Mercury VX-400 (США) зняли ЯМР <sup>1</sup>H-спектри, робоча частота – 400 МГц, розчинник – диметилсульфоксид (ДМСО), внутрішній стандарт – тетраметилсилан (ТМС). На приладі Elementar Vario L cube (ФРН) виконали елементний аналіз, результати якого відповідають розрахованим (±0,3 %).

*Загальна методика синтезу 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів (3a-n).* До розчину відповідного бромкетону 2a-d (1 ммоль) у 10 мл етанолу додавали 4-аміно-4H-[1,2,4]тріазол-3-тіолі 1a-d (1 ммоль) і кип'ятили протягом 4 годин. Після охолодження додавали 20 мл води та 2 % розчин амоніаку до рН ~8. Утворений осад відфільтрували і перекристалізували з етанолу.

*3-Метил-6-феніл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3a).* Вихід – 74 %, T<sub>топл.</sub> – 126–127 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: δ, м.ч.: 2.49 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.39 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.55–7.64 (м, 3H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 8.01 (дд, 2H, J = 8.9 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Обчислено, %: C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>S: C, 57.37; H, 4.38; N, 24.33. Знайдено, %: C, 57.49; H, 4.40; N, 24.25.

*6-(4-Хлорофеніл)-3-метил-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3b).* Вихід – 69 %, T<sub>топл.</sub> – 131–132 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: δ, м.ч.: 2.48 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.37 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.65 (д, 2H, J = 8.6 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 8.03 (д, 2H, J = 8.6 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Обчислено, %: C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>ClN<sub>4</sub>S: C, 49.91; H, 3.43; N, 21.16. Знайдено, %: C, 49.84; H, 3.45; N, 21.20.

*6-(4-Бромофеніл)-3-метил-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3c).* Вихід – 71 %, T<sub>топл.</sub> – 143–144 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: δ, м.ч.: 2.48 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.37 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.79 (д, 2H, J = 8.6 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.95 (д, 2H, J = 8.6 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Обчислено, %: C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>BrN<sub>4</sub>S: C, 42.73; H, 2.93; N, 18.12. Знайдено, %: C, 42.69; H, 3.00; N, 18.16.

*3-Метил-6-р-толіл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3d).* Вихід – 69 %, T<sub>топл.</sub> – 201–202 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: δ, м.ч.: 2.39 (с, 3H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.48 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.35 (с, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.38 (д, 2H, J = 8.1 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7.92 (д, 2H, J = 8.3 Гц, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Обчислено, %: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>S: C, 58.99; H, 4.95; N, 22.93. Знайдено, %: C, 58.94; H, 4.91; N, 23.04.

*6-(4-Хлорофеніл)-3-етил-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3e).* Вихід – 78 %, T<sub>топл.</sub> – 205–206 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: δ, м.ч.: 1.30 (т, 3H, J = 7.5 Гц, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.86–2.92 (м, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 4.35 (с, 2H, CH<sub>2</sub>),

7.65 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ), 8.02 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ). Обчислено, %:  $C_{12}H_{11}ClN_4S$ : С, 51.70; Н, 3.98; N, 20.10. Знайдено, %: С, 51.63; Н, 4.05; N, 20.18.

6-(4-Бромобеніл)-3-етил-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3f). Вихід – 69 %, Ттопл. – 199–200 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 1.29 (т, 3H,  $J = 7.5$  Гц,  $CH_2-CH_3$ ), 2.86–2.91 (м, 2H,  $CH_2-CH_3$ ), 4.38 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.79 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ), 7.95 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ). Обчислено, %:  $C_{12}H_{11}BrN_4S$ : С, 44.59; Н, 3.43; N, 17.33. Знайдено, %: С, 44.62; Н, 3.36; N, 17.40.

3,6-Дифеніл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3g). Вихід – 81 %, Ттопл. – 220–221 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.46 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.54–7.65 (м, 6H, Ar), 8.00–8.04 (м, 4H, Ar). Обчислено, %:  $C_{16}H_{12}N_4S$ : С, 65.73; Н, 4.14; N, 19.16. Знайдено, %: С, 65.60; Н, 4.09; N, 19.22.

6-(4-Хлоробеніл)-3-феніл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3h). Вихід – 71 %, Ттопл. – 199–200 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.44 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.57 (д, 3H,  $J = 6.3$  Гц,  $C_6H_5$ ), 7.66 (д, 2H,  $J = 8.4$  Гц,  $C_6H_4$ ), 8.00–8.03 (м, 4H,  $C_6H_4 + C_6H_5$ ). Обчислено, %:  $C_{16}H_{11}ClN_4S$ : С, 58.80; Н, 3.39; N, 17.14. Знайдено, %: С, 58.73; Н, 3.41; N, 17.20.

6-(4-Бромобеніл)-3-феніл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3i). Вихід – 83 %, Ттопл. – 222–223 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.43 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.55–7.60 (м, 3H,  $C_6H_5$ ), 7.79 (д, 2H,  $J = 8.6$  Гц,  $C_6H_4$ ), 7.94 (д, 2H,  $J = 8.6$  Гц,  $C_6H_4$ ), 8.01 (дд, 2H,  $J = 8.9$  Гц,  $C_6H_5$ ). Обчислено, %:  $C_{16}H_{11}BrN_4S$ : С, 51.86; Н, 2.99; N, 15.09. Знайдено, %: С, 51.77; Н, 3.03; N, 15.06.

3-Феніл-6-р-толіл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3j). Вихід – 71 %, Ттопл. – 211–212 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 2.39 (с, 3H,  $C_6H_4-CH_3$ ), 4.44 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.39 (д, 2H,  $J = 8.3$  Гц,  $C_6H_4$ ), 7.57–7.61 (м, 3H,  $C_6H_5$ ), 7.91 (д, 2H,  $J = 8.2$  Гц,  $C_6H_4$ ), 8.02 (дд, 2H,  $J = 9.0$  Гц,  $C_6H_5$ ). Обчислено, %:  $C_{17}H_{14}N_4S$ : С, 66.64; Н, 4.61; N, 18.29. Знайдено, %: С, 66.60; Н, 4.55; N, 18.36.

3-Бензил-6-феніл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3k). Вихід – 68 %, Ттопл. – 221–222 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.29 (с, 2H,  $CH_2-C_6H_5$ ), 4.40 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.18–7.33 (м, 5H, Ar), 7.55–7.63 (м, 3H, Ar), 7.99 (д, 2H,  $J = 6.9$  Гц, Ar). Обчислено, %:  $C_{17}H_{14}N_4S$ : С, 66.64; Н, 4.61; N, 18.29. Знайдено, %: С, 66.71; Н, 4.60; N, 18.28.

3-Бензил-6-(4-хлоробеніл)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3l). Вихід – 78 %, Ттопл. – 198–199 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.29 (с, 2H,  $CH_2-C_6H_5$ ), 4.39 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.21–7.34 (м, 5H,  $C_6H_5$ ), 7.64 (д, 2H,  $J = 8.5$  Гц,  $C_6H_4$ ), 8.00 (д, 2H,  $J = 8.6$  Гц,  $C_6H_4$ ). Обчислено, %:  $C_{17}H_{13}ClN_4S$ : С, 59.91; Н, 3.84; N, 16.44. Знайдено, %: С, 59.99; Н, 3.82; N, 16.37.

3-Бензил-6-(4-бромобеніл)-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3m). Вихід – 71 %, Ттопл. – 205–206 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 4.28 (с, 2H,  $CH_2-C_6H_5$ ), 4.38 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.21–7.32 (м, 5H,  $C_6H_5$ ), 7.78 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ), 7.92 (д, 2H,  $J = 8.7$  Гц,  $C_6H_4$ ). Обчислено, %:  $C_{17}H_{13}BrN_4S$ : С, 53.00; Н, 3.40; N, 14.54. Знайдено, %: С, 53.12; Н, 3.45; N, 14.60.

3-Бензил-6-р-толіл-7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (3n). Вихід – 69 %, Ттопл. – 202–203 °С. Спектр ЯМР  $^1H$ :  $\delta$ , м.ч.: 2.39 (с, 3H,  $C_6H_4-CH_3$ ), 4.28 (с, 2H,  $CH_2-C_6H_5$ ), 4.36 (с, 2H,  $CH_2$ ), 7.20–7.32 (м, 5H,  $C_6H_5$ ), 7.38 (д, 2H,  $J = 8.1$  Гц,  $C_6H_4$ ), 7.89 (д, 2H,  $J = 8.2$  Гц,  $C_6H_4$ ). Обчислено, %:  $C_{18}H_{16}N_4S$ : С, 67.47; Н, 5.03; N, 17.49. Знайдено, %: С, 67.55; Н, 5.12; N, 17.44.

**Фармакологічна частина (протиухлінна активність).** Протиухлінну активність синтезованих речовин вивчали в Національному інституті раку [22]. Це дослідження передбачало тестування на 60 ліній ракових клітин.

Первинний скринінг полягав у дослідженні сполук у концентрації  $10^{-5}$  М, які додавали до культур клітин, інкубували 48 годин. За допомогою барвника (сульфородаміну Б) визначали кінцеву точку. Результати досліджень тестованих сполук наведені як відсоток росту (Growth percent, GR%) клітин порівняно з ростом контрольних клітин без зразків, що вивчали.

Вторинний етап протиухлінної активності передбачав дослідження сполук, що визначили на першому етапі, в 5 концентраціях. У середовищі RPMI 1640, яке містить 5 % фетальної бичачої сироватки і 2 мМ L-глутаміну, зі скринінгової панелі вирощували людські пухлинні клітини. Перед додаванням речовин, що досліджували, відразу після інокуляції клітин за температури 37 °С, 95 % повітря, 5 %  $CO_2$  та 100 % відносній вологості протягом 24 год інкубували мікротитрові планшети.

Після цих процедур клітини фіксували *in situ* та протягом 60 хв інкубували за температури 4 °С. Надалі 0,4 % розчин сульфородаміну Б (SRB) (100 мкл) в 1 % ацетатній кислоті додали в кожну лунку, після цього планшети інкубували ще 10 хв за кімнатної температури. Після забарвлення видаляли нез'язаний барвник, детектували абсорбцію на автоматизованому рідері при довжині хвилі 515 нм.

Грунтуючись на 7 вимірюваннях абсорбції, зокрема нульового часу (Tz), росту контрольної проби (C) та росту за наявності речовин, які вивчали в 5 концентраціях (Ti), обчислювали відсоток росту клітин для кожної концентрації за формулами:

$[(Ti - Tz)/(C - Tz)] \times 100$  для концентрацій, для яких  $Ti \geq Tz$ ;

$[(Ti - Tz)/Tz] \times 100$  для концентрацій, для яких  $Ti < Tz$ .

За цими обрахунками визначали 3 дозозалежні параметри для кожної з тестованих речовин:

- 1)  $GI_{50}$  (пригнічення росту) – концентрація речовини, що спричиняє інгібування росту 50 % клітин;
- 2) TGI (загальне пригнічення росту) – концентрація речовини, що повністю пригнічує ріст клітин;
- 3)  $LC_{50}$  (летальна концентрація) – концентрація, яка спричиняє загибель 50 % пухлинних клітин.

## Висновки

1. У результаті взаємодії 4-аміно-4H-[1,2,4]тріазол-3-тіолів із відповідними бромоацетофенонами отримали серію ще не описаних у фаховій літературі 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів.

2. Даними елементного аналізу та методом ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопії підтвердили склад і структуру синтезованих речовин.

3. Результати фармакологічного скринінгу тестованих триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів показали виразну вибірку протиупухлинну активність, що дає підстави вважати 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів систему перспективним молекулярним каркасом для дизайну потенційних протиупухлинних агентів.

#### Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Спрямований пошук «лікоподібних» молекул серед нових азолів із застосуванням стратегії *in silico* дизайну», № держреєстрації 0121U109330.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 02.09.2021

Після доопрацювання / Revised: 15.09.2021

Прийнято до друку / Accepted: 01.10.2021

#### Відомості про авторів:

Мирко І. І., асистентка каф. загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-3979-543X](https://orcid.org/0000-0003-3979-543X)

Чабан Т. І., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0618-275X](https://orcid.org/0000-0003-0618-275X)

Огурцов В. В., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-9254-8337](https://orcid.org/0000-0001-9254-8337)

Драпак І. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. загальної, біонеорганічної, фізикоїдної хімії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6830-2908](https://orcid.org/0000-0002-6830-2908)

Матійчук В. С., д-р хім. наук, професор каф. органічної хімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8077-2139](https://orcid.org/0000-0001-8077-2139)

#### Information about authors:

Myrko I. I., Assistant of the Department of General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Chaban T. I., PhD, Associate Professor of the Department of General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Ohurtsov V. V., PhD, Associate Professor of the General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Drapak I. V., DSc, Professor, Head of the Department of General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Matiichuk V. S., DSc, Professor of the Department of Organic Chemistry, Ivan Franko National University, Lviv, Ukraine.

#### Сведения об авторах:

Мирко И. И., ассистент каф. общей, неорганической, физикоїдной химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.

Чабан Т. И., канд. фарм. наук, доцент каф. общей, неорганической, физикоїдной химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.

Огурцов В. В., канд. фарм. наук, доцент каф. общей, неорганической, физикоїдной химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.

Драпак И. В., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. общей, неорганической, физикоїдной химии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.

Матийчук В. С., д-р хим. наук, профессор каф. органической химии, Львовский национальный университет имени Ивана Франко, Украина.

#### Список літератури

- [1] Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel et al. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021. Vol. 71, Iss. 3. P. 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Schirmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *International Journal of Oncology*. 2019. Vol. 54, Iss. 2. P. 407-419. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4661>
- [3] Al-Mulla, A. A Review: Biological Importance of Heterocyclic Compounds. *Der Pharma Chemica*. 2017. Vol. 9, Iss. 13. P. 141-147.
- [4] A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications / N. Kerru, L. Gummidu, S. Maddila, et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25, Iss. 8. P. 1909-1951. <https://doi.org/10.3390/molecules25081909>
- [5] Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel 7*H*-[1,2,4]Triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine Inhibitors as Antitumor Agents / M. Ismail, S. Mohamady, N. Samir, K. Abouzid. *ACS Omega*. 2020. Vol. 5, Iss. 32. P. 20170-20176. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01829>
- [6] Thio-amido Coordination in a Thioxo-1,2,4-triazole Copper(II) Complex Enhances Nonapoptotic Programmed Cell Death Associated with Copper Accumulation and Oxidative Stress in Human Cancer Cells / S. Tardito, O. Bussolati, M. Maffini et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2007. Vol. 50, Iss. 8. P. 1916-1924. <https://doi.org/10.1021/jm061174f>
- [7] Kamel M. M., Megally Abdo, N. Y. Synthesis of novel 1,2,4-triazoles, triazolothiadiazines and triazolothiadiazoles as potential anticancer agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2014. Vol. 8, Iss. 86. P. 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.047>
- [8] Design and novel synthetic approach supported with molecular docking and biological evidence for naphthoquinonehydrazinotriazolothiadiazine analogs as potential anticancer inhibiting topoisomerase-II / S. Mohamady, A. Gibriel, M. Ahmed et al. *Bioorganic chemistry*. 2020. Vol. 96. P. 103641. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103641>
- [9] Bhatia R., Rathore P., Nayak S. Synthesis, characterization and anti-inflammatory activity of 1,2,4 triazole derivatives. *Current Research in Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 2, Iss. 3. P. 160-165.
- [10] Synthesis and anticonvulsant activity evaluation of 6-phenyl-7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines / M. Song, C. Zhang, X. Deng et al. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2011. Vol. 8, Iss. 8. P. 769-773. <https://doi.org/10.2174/157018011796575962>
- [11] Synthesis and biological evaluation of dihydroindeno- and indeno[1,2-*e*][1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines as antimicrobial agents / O. Prakash, D. Aneja, K. Hussain et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, Iss. 10. P. 5065-5073. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.08.019>
- [12]  $\alpha,\alpha$ -Dibromoacetophenones mediated synthesis of some new 7*H*-7-alkoxy-3-alkyl/phenyl-6-aryl-s-triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines and their antimicrobial evaluation / R. Pundeer, V. Kiran, R. Prakash et al. *Medicinal Chemistry Research*. 2012. Vol. 21, Iss. 12. P. 4043-4052. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9945-1>
- [13] Nayak S. G., Poojary B. Design, Synthesis, In Silico Docking Studies, and Antibacterial Activity of Some Thiadiazines and 1,2,4-Triazole-3-Thiones Bearing Pyrazole Moiety. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 46, Iss. 1. P. 97-106. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010069>
- [14] Синтез та дослідження антимікробної активності деяких піразолозаміщених 7*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів / І. Мирко, Т. Чабан, В. Огурцов, В. Матійчук. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 1. С. 5-13. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.1.11986>
- [15] Preliminary SAR and biological evaluation of antitubercular triazolothiadiazine derivatives against drug-susceptible and drug-resistant *Mtb* strains / Z. Li, X. Bai, Q. Deng et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 25, Iss. 1. P. 213-220. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.10.027>



- [16] Niranjana K., Kumar N., Kumar A. Synthesis of triazolothiadiazine derivatives as antioxidant agents. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015. Vol. 7, Iss. 6. P. 120-123.
- [17] Синтез деяких нових N3 заміщених 5-гідрокси-7-метил-3H-тіазоло[4,5-b]піридин-2-онів як потенційних біологічно активних речовин / Т. І. Чабан, В. В. Огурцов, В. С. Матійчук та ін. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 129-134. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.170974>
- [18] Approaches for the synthesis, chemical modification and biological properties of N-acylphenothiazines / I. Myrko, T. Chaban, Y. Matiichuk et al. *Current Chemistry Letters*. 2021. Vol. 10, Iss. 4. P. 377-392. <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2021.5.005>
- [19] Synthesis, molecular docking and biological properties of novel thiazolo[4,5-b]pyridine derivatives / T. Chaban, Y. Matiichuk, O. Shyyka et al. *Acta Chimica Slovenica*. 2020. Vol. 67, Iss. 4. P. 1035-1043. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2019.5439>
- [20] Synthesis and biological evaluation of new 4-oxo-thiazolidin-2-ylidene derivatives as antimicrobial agents / T. Chaban, Y. Matiichuk, Z. Chulovska et al. *Archiv der Pharmazie*. 2021. Vol. 354, Iss. 7. P. e2100037. <https://doi.org/10.1002/ardp.202100037>
- [21] Мнджоян А. Л. Синтезы гетероциклических соединений. Вып. 5. Ереван: АН АрмССР, 1960. 86 с.
- [22] Developmental Therapeutics Program. URL : <http://dtp.nci.nih.gov>
- [12] Pundeer, R., Kiran, V., Prakash, R., Subhash, S., Bhatia, C., Sharma, C., & Aneja, K.  $\alpha,\alpha$ -Dibromoacetophenones mediated synthesis of some new 7H-7-alkoxy-3-alkyl/phenyl-6-aryl-s-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines and their antimicrobial evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 21(12), 4043-4052. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9945-1>
- [13] Nayak, S. G., & Poojary, B. (2020). Design, synthesis, in silico docking studies, and antibacterial activity of some thiadiazines and 1,2,4-triazole-3-thiones bearing pyrazole moiety. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 46(1), 97-106. <https://doi.org/10.1134/S1068162020010069>
- [14] Myrko, I. I., Chaban, T. I., Ogurtsov, V. V., & Matiychuk, V. S. (2021). Synthesis ta doslidzhennia antymikrobnoi aktivnosti deiakykh pirazolozamishchenykh 7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazyniv [Synthesis and study of antimicrobial activity of some pyrazole-substituted 7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines]. *Farmatsevtichnyy chasopys*, (1), 5-13. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.1.11986>
- [15] Li, Z., Bai, X., Deng, Q., Zhang, G., Zhou, L., Liu, Y., Wang, J., & Wang, Y. (2017). Preliminary SAR and biological evaluation of anti-tubercular triazolothiadiazine derivatives against drug-susceptible and drug-resistant Mtb strains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25(1), 213-220. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.10.027>
- [16] Niranjana K., Kumar N., & Kumar, A. (2015). Synthesis of triazolothiadiazine derivatives as antioxidant agents. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(6), 120-123.
- [17] Chaban, T. I., Ohurtsov, V. V., Matiichuk, V. S., Honcharenko, O. V., & Chaban I. H. (2019). Syntez deiakykh novykh N3 zamishchenykh 5-hidroksy-7-metyl-3H-tiazolo[4,5-b]pirydy-2-oniv yak potentsiinykh biolohichno aktyvnykh rehovyn [Synthesis of some new N3 substituted 5-hydroxy-7-methyl-3H-thiazolo[4,5-b]pyridin-2-ones as potential biologically active substances]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 12(2), 129-134. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.170974>
- [18] Myrko, I., Chaban, T., Matiichuk, Y., Arshad, M., & Matiychuk, V. (2021). Approaches for the synthesis, chemical modification and biological properties of n-acylphenothiazines. *Current Chemistry Letters*, 10(4), 377-392. <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2021.5.005>
- [19] Chaban, T. I., Matiichuk, Y. E., Shyyka, O. Y., Chaban, I. G., Ogurtsov, V. V., Nektgayev, I. A., & Matiychuk, V. S. (2020). Synthesis, Molecular Docking and Biological Properties of Novel Thiazolo[4,5-b]pyridine Derivatives. *Acta chimica Slovenica*, 67(4), 1035-1043. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2019.5439>
- [20] Chaban, T., Matiichuk, Y., Chulovska, Z., Tymoshuk, O., Chaban, I., & Matiychuk, V. (2021) Synthesis and biological evaluation of new 4-oxo-thiazolidin-2-ylidene derivatives as antimicrobial agents. *Archiv der Pharmazie*, 354(7), e2100037. <https://doi.org/10.1002/ardp.202100037>
- [21] Мнджоян А. Л. (1960). *Syntezy heterotsyklycheskykh soedyneniy*. Vypusk 5. [Synthesis of heterocyclic compounds (Vol. 5)]. Erevan: AN ArmSSR. [in Russian].
- [22] Developmental Therapeutics Program. Available online: <http://dtp.nci.nih.gov>





## Вплив засобу Панкрео-Плант на гістологічні показники печінки за умов гострого токсичного гепатиту

Л. М. Трутаєва<sup>1b\*</sup>

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Токсичні ураження печінки є найбільш проблемними для фармакотерапії та, відповідно, нормалізації стану пацієнта. Найчастіші гепатотоксини – алкоголь, ліки, побутові та промислові токсини, дія яких на печінку призводить до розвитку некрозу гепатоцитів. Особливістю лікарського токсичного гепатиту є широкий спектр клінічних проявів, відсутність однозначних методів діагностики захворювань, нерідко поганий прогноз, що робить його однією з найскладніших проблем у клінічній практиці. Перспективним лікарським засобом для терапії токсичних уражень печінки можна вважати багатокомпонентний рослинний засіб, який вітчизняний виробник випускає у формі дієтичної добавки.

**Мета роботи** – дослідити вплив рослинного засобу Панкрео-Плант на гістологічну структуру печінки щурів в умовах підгострої етанол-тетрахлорметанової інтоксикації.

**Матеріали та методи.** Сформували модель отруєння та дослідили зразки печінки білих нелінійних щурів. Мікропрепарати вивчали під світловим мікроскопом Granum, мікроскопічні зображення робили цифровою камерою Granum DCM 310. Фотознімки опрацювали на комп'ютері за допомогою програми Toup View.

**Результати.** Дослідили мікропрепарати, що отримані зі зразків печінки щурів за умов підгострої етанол-тетрахлорметанової інтоксикації. Доведено, що засіб Панкрео-Плант сприяє зменшенню некротичних проявів, гідропічної дистрофії гепатоцитів, проявів стеатозу й ознак запалення, стимулює вуглеводний обмін у гепатоцитах, поліпшує регенераторні прояви.

**Висновки.** Встановили, що досліджуваний засіб на основі лікарської рослинної сировини за умови використання моделі підгострої етанол-тетрахлорметанової інтоксикації має виразну гепатопротекторну дію, нормалізує гістологічну структуру гепатоцитів, відновлює процеси накопичення глікогену, запобігає розвитку жирової дистрофії печінки.

**Ключові слова:** захворювання печінки, гепатит, лікарська рослинна сировина, моделювання, дослідження на тваринах.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 328–335**

### Influence of Pancreo-Plant on the histological parameters of the liver in conditions of acute toxic hepatitis

L. M. Trutaieva

Toxic liver damage is the most problematic for pharmacotherapy and, accordingly, the normalization of the patient's condition. Most often, hepatotoxins include alcohol, drugs, household and industrial toxins, the effect of which on the liver leads to the development of hepatocyte necrosis. The peculiarity of drug toxic hepatitis is a wide range of clinical manifestations, the absence of unambiguous diagnostic methods, frequent poor prognosis, which makes toxic hepatitis one of the most difficult problems in clinical practice. A promising drug for the treatment of toxic liver damage is a multicomponent herbal remedy, which is currently produced by a domestic manufacturer in the form of a dietary supplement.

**The aim** of the work is to study the effect of the herbal remedy Pancreo-Plant on the histological structure of the liver of rats, under conditions of subacute ethanol-tetrachloromethane intoxication.

**Materials and methods.** A model of poisoning was formed and liver samples from nonlinear white rats were examined. The slides were examined under the light microscope Granum, photographing of microscopic images was carried out with Granum DCM 310 digital video camera. The photographs were processed on a computer using the Toup View program.

**Results.** Micropreparations obtained from liver samples of rats under the condition of subacute ethanol-tetrachloromethane intoxication, were investigated. It has been proven that Pancreo-Plant helps to reduce necrotic manifestations, hydropic degeneration of hepatocytes, manifestations of steatosis, and signs of inflammation; it also stimulates carbohydrate metabolism in hepatocytes and improves regenerative manifestations.

**Conclusions.** It was found that the investigated agent based on medicinal plant materials, when using the model of subacute ethanol-tetrachloromethane intoxication, exhibits a significant hepatoprotective effect. It normalizes the histological structure of hepatocytes, restores the processes of glycogen accumulation, and prevents the development of fatty degeneration of the liver.

**Key words:** liver disease, hepatitis, medicinal plant materials, modeling, animal studies.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 328–335**

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239497>

UDC 615.243/245:616.36-002-018-07

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239497](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239497)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 328–335**

**Key words:** liver disease, hepatitis, medicinal plant materials, modeling, animal studies.

\*E-mail: [trutaieval@gmail.com](mailto:trutaieval@gmail.com)

Received: 02.08.2021 // Revised: 19.08.2021 // Accepted: 27.08.2021

## **Влияние средства Панкрео-Плант на гистологические показатели печени в условиях острого токсического гепатита**

Л. Н. Трутаева

Токсические поражения печени – наиболее проблемные для фармакотерапии и, соответственно, нормализации состояния пациента. Чаще всего гепатотоксинами являются алкоголь, лекарства, бытовые и промышленные токсины, действие которых на печень приводит к развитию некроза гепатоцитов. Особенность лекарственного токсического гепатита – широкий спектр клинических проявлений, отсутствие однозначных методов диагностики заболеваний, нередко плохой прогноз, что делает его одной из самых сложных проблем в клинической практике. Перспективным лекарственным средством для терапии токсических поражений печени можно считать многокомпонентное растительное средство, которое отечественный производитель выпускает в форме диетической добавки.

**Цель работы** – исследовать влияние растительного средства Панкрео-Плант на гистологическую структуру печени крыс в условиях подострой этанол-тетрахлорметановой интоксикации.

**Материалы и методы.** Сформировали модель отравления и исследовали образцы печени белых нелинейных крыс. Микропрепараты изучили под световым микроскопом Granum, микроскопические изображения сделали цифровой камерой Granum DCM 310. Фотографии обрабатывали на компьютере с помощью программы Tour View.

**Результаты.** Изучили микропрепараты, полученные из образцов печени крыс при условии подострой этанол-тетрахлорметановой интоксикации. Доказано, что средство Панкрео-Плант способствует уменьшению некротических проявлений, гидропической дистрофии гепатоцитов, проявлений стеатоза и признаков воспаления, стимулирует углеводный обмен в гепатоцитах, улучшает регенераторные проявления.

**Выводы.** Установлено, что исследуемое средство на основе лекарственного растительного сырья при использовании модели подострой этанол-тетрахлорметановой интоксикации проявляет значительное гепатопротекторное действие, нормализует гистологическую структуру гепатоцитов, восстанавливает процессы накопления гликогена, предотвращает развитие жировой дистрофии печени.

**Ключевые слова:** заболевания печени, гепатит, лекарственное растительное сырьё, моделирование, исследования на животных.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 328–335**

Токсичні ураження печінки є найбільш проблемними для фармакотерапії та, відповідно, нормалізації стану пацієнта. Найчастіші гепатотоксини – алкоголь, ліки, побутові та промислові токсини, дія яких на печінку призводить до розвитку некрозу гепатоцитів [1].

Особливість лікарського токсичного гепатиту, який реєструють у 10–20 зі 100 тисяч пацієнтів, – широкий спектр клінічних проявів, відсутність однозначних методів діагностики захворювань, нерідко поганий прогноз, що робить його однією з найскладніших проблем у клінічній практиці [2,3].

Токсичний гепатит у 2–5 % випадків – причина жовтяниці в госпіталізованих пацієнтів, що становить майже 10 % усіх випадків гострого гепатиту [4,5] та 11 % випадків гострої печінкової недостатності [6]. До 40 тисяч смертей на рік зумовлені лікарською токсичністю. Також вони можуть бути причиною хронічного ураження печінки та формування вираженого фіброзу/цирозу [7,8]. Тяжкість варіює від легкої до вкрай важкої, можливі летальні наслідки. У роботі Ghabril et al. [9] вивчено ступінь тяжкості ураження печінки від дії лікарських засобів у 542 випадках; зробили висновок, що в 60 % вони були легкими та помірними, 37 % – важкі, в 3 % – летальні.

Перспективним лікарським засобом для терапії токсичних уражень печінки можна вважати багатокомпонентний рослинний засіб Панкрео-Плант (виробництва ПАТ «ХФЗ «Червона Зірка», м. Харків), який рекомендований як дієтичний засіб для поліпшення роботи підшлункової залози та вперше пропонується як гепатопротектор. Засіб Панкрео-Плант містить стандартизовану лікарську рослину сировину: лопуха великого корінь, оману високого коріння, реп'яшка аптечного траву, деревію звичайного

траву, ромашки аптечної квітки, кульбаби лікарської корінь, козлятника лікарського траву. Спектр біологічно активних речовин з антиоксидантною, антигіпоксичною, антицитолітичною діями – теоретична передумова наявності в засобу гепатопротекторної дії за умов гострого токсичного ураження печінки.

### **Мета роботи**

Дослідити вплив рослинного засобу Панкрео-Плант на гістологічну структуру печінки щурів в умовах підгострої етанол-тетрахлорметанової інтоксикації.

### **Матеріали і методи дослідження**

Експерименти здійснили на 24 статевозрілих білих рандомбредних щурах, самцях і самках вагою 180,0–240,0 г; тварин отримали з віварію ЦНДЛ НФаУ. Перед експериментом тварин акліматизовано протягом 7 діб у кімнаті для випробувань із контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря +20–24 °С, відносна вологість 45–65 %, світловий режим 12 год день і 12 год ніч. Здійснювали провітрювання кімнати, стерилізацію повітря за допомогою кварцової лампи, дотримувалися інших санітарних норм відповідно до внутрішньої документації.

Щурів утримували в однакових умовах, на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних вимог у віварії ЦНДЛ НФаУ. Дослідження здійснили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами

1998 р.), наказу № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [10]. Комісією з біоетики НФаУ не виявлено порушень морально-етичних норм під час здійснення науково-дослідної роботи.

Тварин поділили на 4 групи: 1 – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (КП); 3 – щури після профілактично-лікувального введення дієтичної добавки Панкрео-Плант; 4 – щури після препарату порівняння силімарин (торговельна назва Легалон).

Комбінований рослинний засіб Панкрео-Плант у дозі 72 мг/кг вводили експериментальним тваринам внутрішньошлунково в лікувально-профілактичному режимі протягом 7 діб, востаннє – за 40 хв до моделювання підгострого етанол-тетрахлорметанового (ТХМ) отруєння. Препарат порівняння силімарин (торговельна назва Легалон) вводили за аналогічною схемою в дозі 25 мг/кг, що відповідає максимальній терапевтичній дозі для людини 420 мг на добу (по 2 капсули, що містять 70 мг силімарину, тричі на добу) [11]. Перерахунок доз для щурів здійснили, враховуючи коефіцієнт видової чутливості.

Експериментальні дані опрацювали статистично, використавши t-критерій Стьюдента. Застосували програму статистичного аналізу AnalystSoft Inc., StatPlus, version 6 [12].

Підгостре етанол-тетрахлорметанове отруєння змоделювали за методичними рекомендаціями [13].

ТХМ вводили підшкірно у формі 50 % олійного розчину в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла тварини; через 3 год – внутрішньошлунково 40 % етанол у дозі 1,3 мл/100 г маси. Процедуру повторювали протягом 4 діб. Дієтичну добавку Панкрео-Плант та Легалон вводили протягом 7 днів до початку введення ТХМ та етанолу, а також внутрішньошлунково за 1 годину до введення гепатотоксичних отрут протягом усього періоду отруєння щурів, через 72 години після в дозі 72 мг/кг і 25 мг/кг відповідно. З експерименту щурів виводили методом декапітації під легким хлороформним наркозом після останнього введення препаратів.

Досліджували зразки печінки білих нелінійних щурів після моделювання підгострого етанол-тетрахлорметанового отруєння в 4 групах. Зразки печінки (вилучені при аутопсії) фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафін. Блоки різали на санному мікротомі МС-1. Зрізи з органів завтовшки 5–6 мкм для оглядової мікроскопії забарвлювали гематоксилином та еозином. На зрізах печінки для виявлення глікогену виконували ШИК-реакцію за Мак-Манусом (контроль – амілаза слини). Додатково зразки печінки, фіксовані у формаліні, різали на мікротомі, що заморожує, забарвлювали суданом IV для ідентифікації загальних ліпідів [14,15].

Мікропрепарати вивчали під світловим мікроскопом Granum, мікроскопічні зображення фотографували цифровою камерою Granum DCM 310. Фотознімки опрацювали за допомогою програми TourView.

**Таблиця 1.** Напівкількісне оцінювання виразності патологічних змін у паренхімі печінки щурів після отруєння тетрахлорметаном і корекції засобом Панкрео-Плант, Ме (LQ; UQ)

Група щурів	Ознаки, бали			
	Некроз	Жирова дистрофія	Запальна реакція	Збереженість структури
Інтактний контроль	0	0	0	4,00
КП (ТХМ)	3,50	3,66	3,00	1,00
КП + Панкрео-Плант	2,00	2,66	2,50	2,08
КП + силімарин	3,00	2,83	2,66	2,50

## Результати

Вживаність тварин в експериментальних групах становила 100 %. Підгострий етанол-тетрахлорметановий гепатит спричиняє суттєві деструктивні ушкодження гепатоцитів порівняно з групою інтактного контролю (рис. 1).

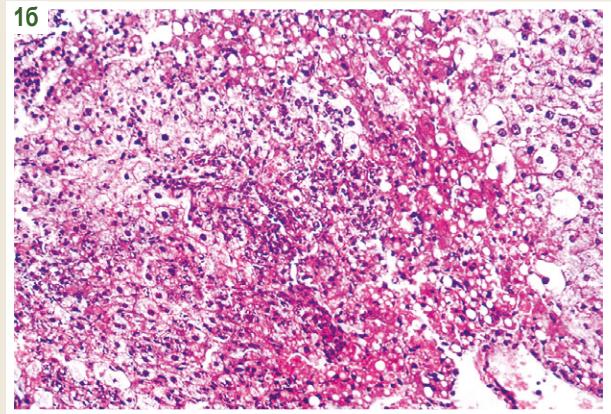
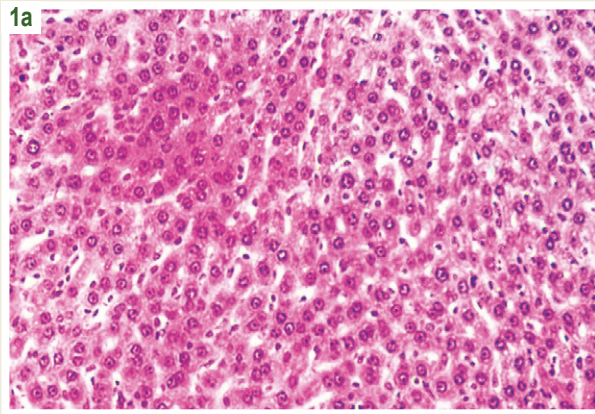
Після моделювання етанол-тетрахлорметанового гепатиту в усіх щурів визначили суттєві порушення гістологічної структури печінкової паренхіми всіх зон часточок. Патологічні зміни характеризувалися некрозом, гідропічною (балонною) та жировою дистрофією, циркуляторними розладами, запальною реакцією. Осередки некрозу мали перивенулярну локалізацію, їх виявили і в центральних збиральних, підчасточкових збиральних венах, і у венозних структурах портальних трактів. Зони некрозу широкі. Гепатоцити таких осередків були у стані так званої ацидофільної дегенерації – характеризувалися виразною еозинофільною цитоплазмою, ядрами з ознаками каріорексису, каріопікнозу, каріолізису, втратою чіткої клітинної мембрани. На відміну від інтактних щурів, у тварин групи контрольної патології зареєстрували порушення процесів накопичення глікогену та жирову дистрофію печінки (рис. 2, 3).

Результати напівкількісного оцінювання виразності патологічних змін у паренхімі печінки щурів після отруєння тетрахлорметаном і корекції засобом Панкрео-Плант наведені в таблиці 1.

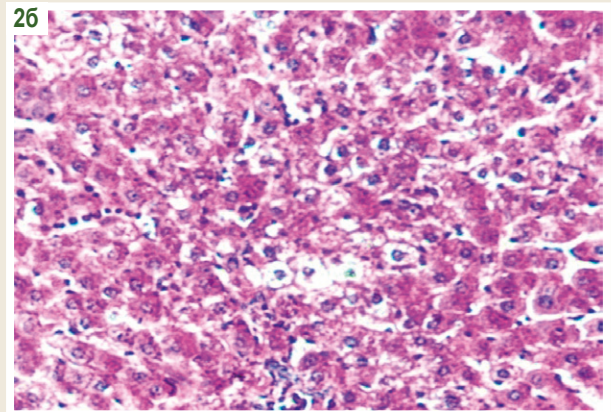
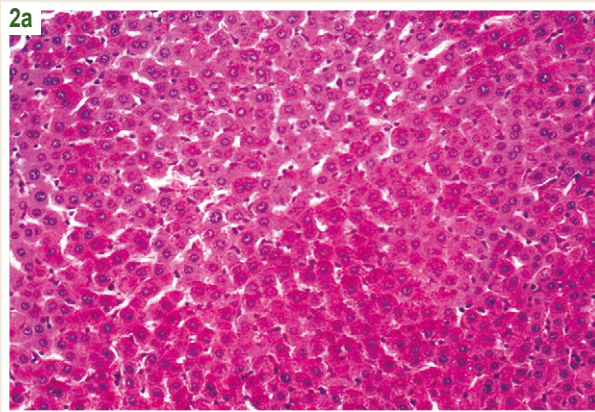
Забарвлення реактивом Шиффа показало зменшення вмісту глікогену в цитоплазмі всіх дистрофічно змінених гепатоцитів різних зон часточок (виразне зменшення інтенсивності ШИК-реакції) та відсутність його у клітинах у стані некрозу (рис. 2б).

Поза ділянками некрозу в усіх щурів виявлена дифузна вакуольна дистрофія гепатоцитів із повною дезорганізацією балкової структури. Аналіз вакуольної дистрофії гепатоцитів показав поєднану гідропічну (балонну) та жирову дистрофію – у клітинах виявили і нерівні обриси, що заповнені рідиною, і чітко окреслені вакуолі. Ядра частини гепатоцитів мали ознаки каріолізису, часто зміщені на периферію. Нерідко цілісність клітин порушена (рис. 3а). Забарвлення суданом підтвердило наявність жирової дистрофії – цитоплазма переважної більшості клітин забарвлювалася в жовто-оранжевий колір. Стеатоз

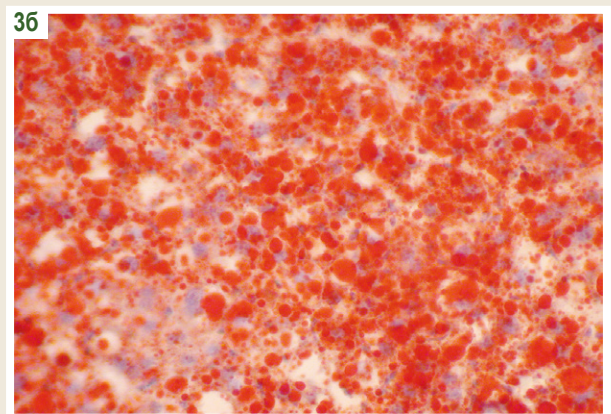
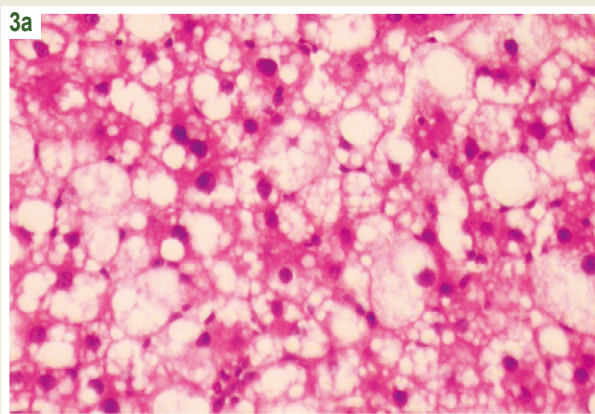




**Рис. 1а.** Печінка інтактного щура. Балковий рисунок не порушено, гепатоцити звичайної форми та розміру, синусоїдальні капіляри без змін. Забарвлення гематоксилином та еозином,  $\times 200$ . **16:** Печінка щура з етанол-тетрахлорметановим гепатитом. Ацидофільна дегенерація клітин, різна за виразністю інфільтрація клітинного детриту лімфоцитарними клітинами з домішкою нейтрофілів (обриси). Забарвлення гематоксилином та еозином,  $\times 200$ .



**Рис. 2а.** Печінка інтактного щура. Рівномірний розподіл гранул глікогену в цитоплазмі гепатоцитів. Забарвлення – ШИК-реакція за Мак-Манусом, гематоксилін,  $\times 200$ . **26:** Печінка щура з етанол-тетрахлорметановим гепатитом. Виразне зменшення інтенсивності ШИК-реакції в цитоплазмі дистрофічно змінених гепатоцитів, її відсутність в осередках некрозу. Забарвлення – ШИК-реакція за Мак-Манусом, гематоксилін,  $\times 250$ .



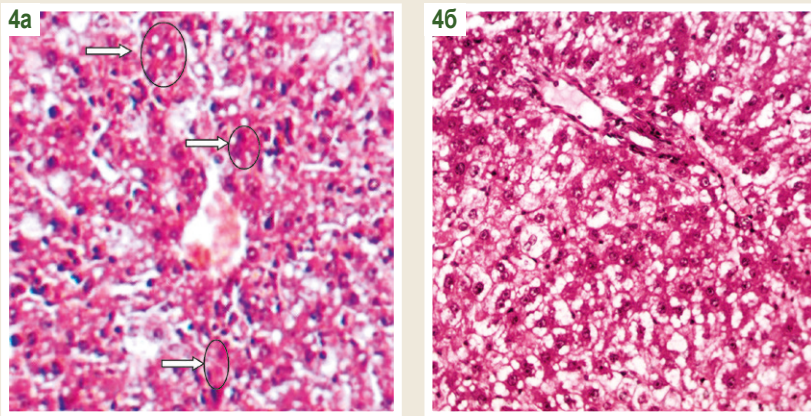
**Рис. 3.** Печінка щура з етанол-тетрахлорметановим гепатитом. **3а:** поєднання гідропічної (балонної) та жирової дистрофії ( $\times 400$ ); забарвлення гематоксилином та еозином. **36:** жирові везикули у цитоплазмі клітин, жирові кісти; забарвлення – судан IV, гематоксилін,  $\times 250$ .

мав великокрапельний характер. Іноді вакуолі зливалися, утворюючи різного розміру кісти (рис. 3б). Жирові вакуолі не виявили тільки в гепатоцитах у стані некрозу.

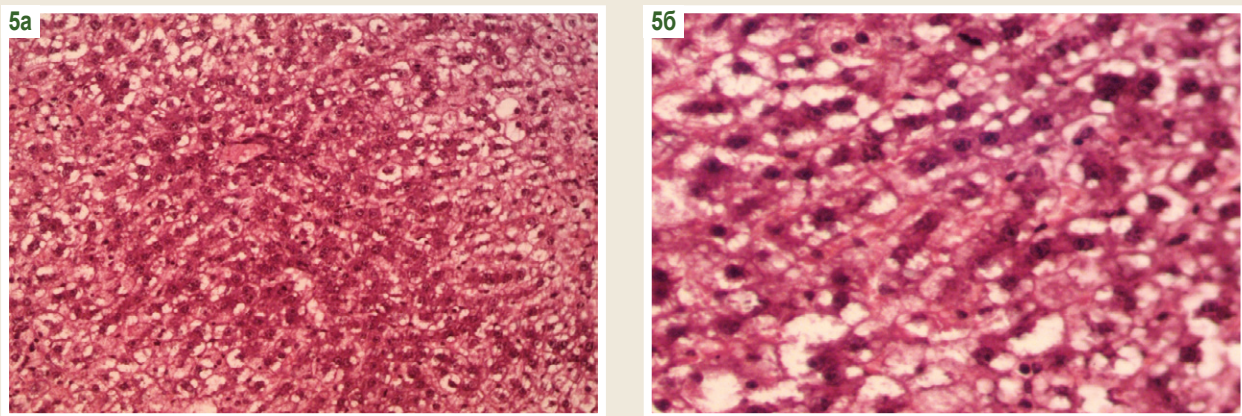
Профілактично-лікувальне введення засобу Панкрео-Плант на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту

зменшувало деструктивні явища в гепатоцитах. Не виявили ознаки прогресування патології, як-от появу мостоподібних некрозів. Некротичні зміни централобулярно та перипортально визначали тільки в окремих дрібних групах гепатоцитів (рис. 4).

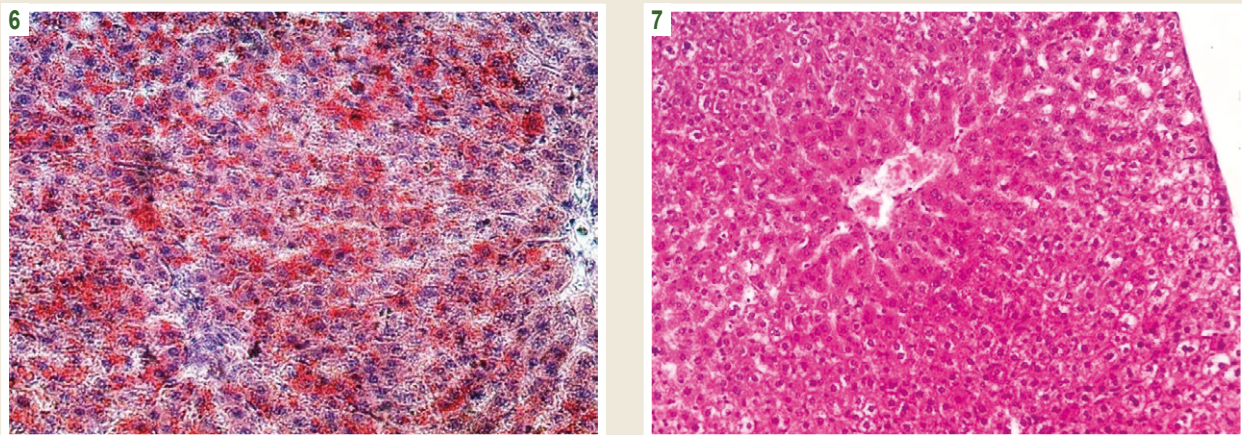




**Рис. 4.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення засобу Панкрео-плант на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. Центролобулярна (а) і перипортальна (б) зона; часточки: дуже дрібні осередки (овали) або відсутність некрозу гепатоцитів. Гематоксилін та еозин,  $\times 200$ .



**Рис. 5.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення засобу Панкрео-Плант на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. а,б: зменшення виразності гідропічної дистрофії гепатоцитів. Поява клітин, що зберігають наближені до норми морфологічні характеристики, відновлення радіальної спрямованості тяжів гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 200$ ,  $\times 250$ .



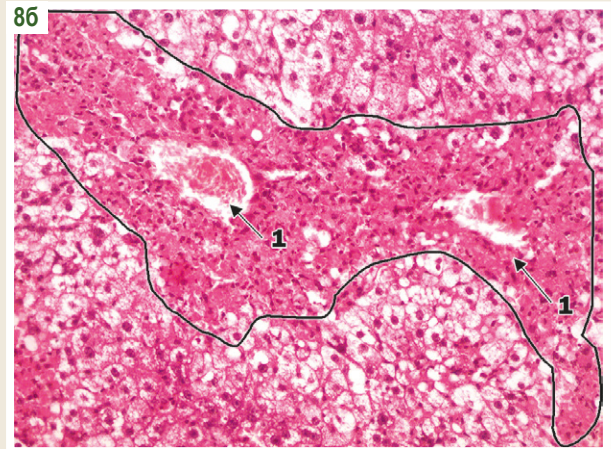
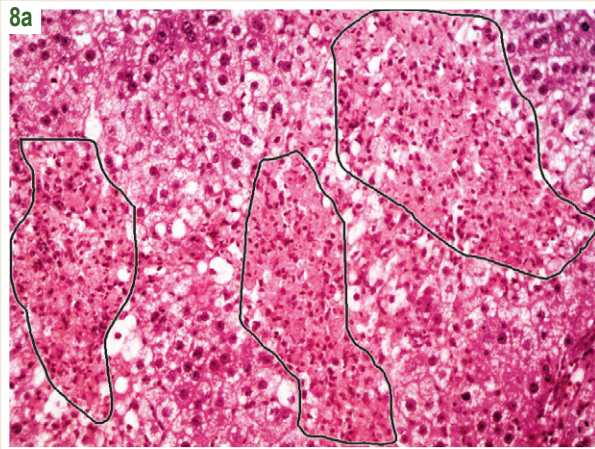
**Рис. 6.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення засобу Панкрео-Плант на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. Мікрокрапельні жирові везикули в цитоплазмі гепатоцитів, відсутність жирових кіст. Забарвлення – судан IV, гематоксилін,  $\times 200$ .

**Рис. 7.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення засобу Панкрео-Плант на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. Відновлення інтенсивності ШИК-реакції в гепатоцитах центральної та збільшення у клітинах перипортальної та проміжної зон часточок. Забарвлення – ШИК-реакція за Мак-Манусом, гематоксилін,  $\times 200$ .

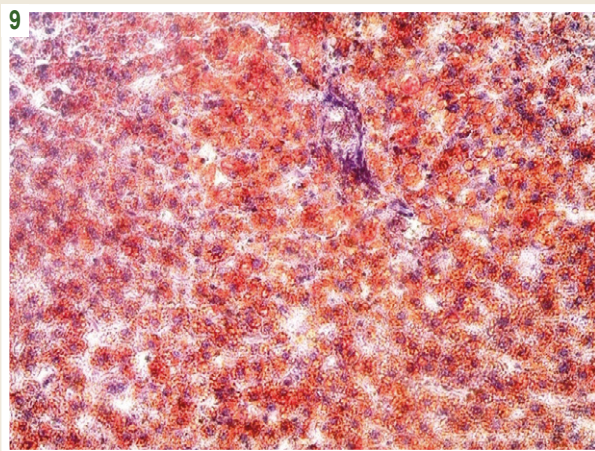
Поза осередками некрозу в печінкових часточках зареєстрували вогнищеву вакуольну дистрофію гепатоцитів, але значно меншою була виразність гідропічної (балонної) дистрофії гепатоцитів (незважаючи на певне коливання вираженості цієї ознаки в різних шурів).

У всіх зонах часточок спостерігали появу клітин, які зберігали типову форму та розмір, візуально нормальні морфологічні характеристики ядра та цитоплазми. Виявили тяжі гепатоцитів, що відновлювали радіальну спрямованість (рис. 5). Відповідно, удвічі

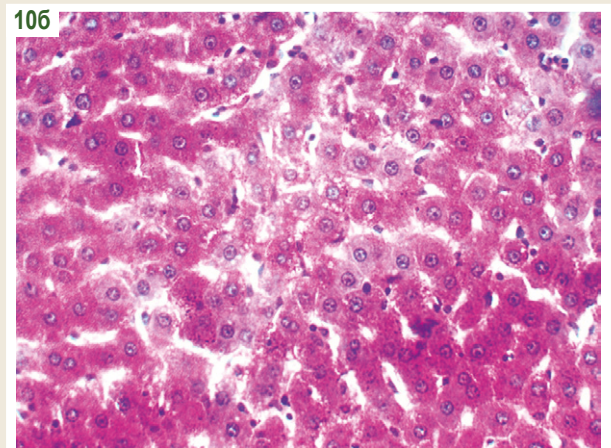
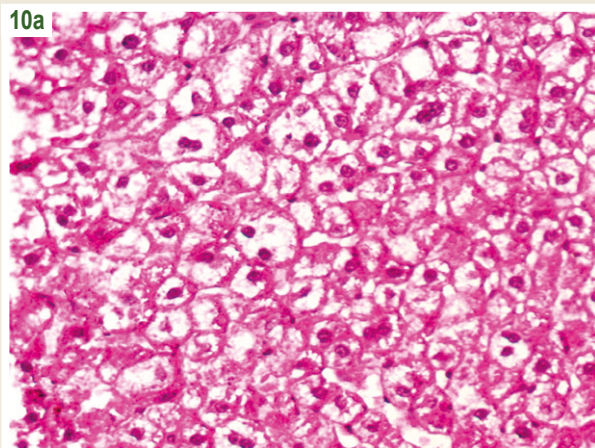




**Рис. 8.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення препарату порівняння силімарин на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. **а:** численні відносно дрібні осередки некрозу, запальна клітинна інфільтрація осередків; **б:** мостоподібний некроз, що об'єднує кілька кровоносних судин (1). Забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 200$ .



**Рис. 9.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення препарату порівняння силімарин на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. Середньокрапельна дифузна жирова дистрофія гепатоцитів із вогнищевими великокрапельними жировими везикулами. Забарвлення – судан IV, гематоксилін,  $\times 250$ .



**Рис. 10.** Печінка щура після профілактично-лікувального введення препарату порівняння силімарин на тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту. Різна за виразністю забарвленість реактивом Шиффа цитоплазми гепатоцитів: майже відсутня (**а**), помірна (**б**). Забарвлення – ШИК-реакція за Мак-Манусом, гематоксилін,  $\times 200$ .

збільшеними були зони часточок зі збереженням рисунка паренхіми.

Введення засобу Панкрео-Плант зменшувало жирову дистрофію гепатоцитів. Жирові везикули мали здебільшого дрібний характер, не порушували цілісність клітин (*рис. 6*). У щурів, що отримували Панкрео-Плант, ШИК-реакція виразніша за таку у групі контрольної патології в цитоплазмі гепатоцитів проміжних і перипортальних зон; майже відповідала інтактному контролю в центролобулярних зонах часточок (*рис. 7*).

Препарат порівняння силімарин характеризувався менш виразною гепатопротекторною дією, що підтверджено гістологічними дослідженнями. Після аналогічного за схемою введення препарату порівняння силімарин у печінці всіх щурів спостерігали численні осередки некрозу різного розміру (ацидофільна дегенерація гепатоцитів) у перивенулярних і перипортальних зонах часточок, їхня лімфоїдна інфільтрація виразна. Майже в 50 % тварин виявили некротичні містки між різними судинними структурами (*рис. 8*).



У разі забарвлення суданом IV майже в усіх щурів виявили середньокрапельну дифузну жирову дистрофію гепатоцитів із вогнищевими великокрапельними жировими накопиченнями та невеликими кістами (рис. 9)

ШИК-реакція на ділянках з балонною дистрофією гепатоцитів майже відсутня, на інших ділянках вона зросла порівняно з контрольною патологією, однак слабша, ніж в інтактного контролю (рис. 10).

## Обговорення

Підгостра етанол-тетрахлорметанова інтоксикація індукує в щурів істотні порушення гістологічної структури печінкової паренхіми. Патологічні зміни характеризувалися некрозом, балонною та жировою дистрофією гепатоцитів, циркуляторними розладами, запальною реакцією. Ця мікроскопічна картина відповідає стану гострого токсичного ураження органа.

Багатокомпонентний рослинний засіб Панкрео-Плант у разі профілактично-лікувального введення сприяє зменшенню виразності некротичних проявів, зменшенню гідропічної (балонної) дистрофії гепатоцитів, проявів стеатозу й ознак запалення. Введення Панкрео-Планту стимулює вуглеводний обмін у гепатоцитах, активізує регенераторні прояви. Це сприяє прискоренню процесів відновлення гепатоцитів, наближенню до нормальної структури печінкової паренхіми.

За силою гепатозахисного впливу засіб Панкрео-Плант ефективніший за препарат порівняння силімарин.

Виражену ефективність засобу Панкрео-Плант можна пояснити його полімодальною фармакологічною дією. Комбінований рослинний засіб Панкрео-Плант містить корінь лопуха великого (*Arctium lappa*), який має антиоксидантну, протизапальну дію, поліпшує вуглеводний обмін, знижує інсулінорезистентність [16]; коріння оману високого (*Inula helenium*), якому властиві антиоксидантний, протизапальний ефекти, спричиняє нормалізацію вуглеводного обміну [17]; траву реп'яшка аптечного (*Agrimonia eupatoria*), що характеризується антиоксидантною, антицитолітичною, антитоксичною активністю, сприяє нормалізації ліпідного обміну [18]; траву деревію звичайного (*Achillea millefolium*), який чинить антиоксидантний, антицитолітичний, гепатопротекторний ефекти [19,20]; квітки ромашки аптечної (*Matricaria chamomilla*) з її антиоксидантним, антицитолітичним, протизапальним, гепатопротекторним впливом [21]; коріння кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*), що має антиоксидантну, антицитолітичну, гепатопротекторну дію, сприяє нормалізації жовчоутворення та жовчовиділення [22]; траву козлятника лікарського (*Galega officinalis*), що характеризується антиоксидантною, імунокорегувальною активністю [23].

## Висновки

1. Багатокомпонентний засіб Панкрео-Плант за умови підгострої етанол-тетрахлорметанової інтоксикації характеризується суттєвою гепатопротекторною дією,

нормалізує гістоструктуру гепатоцитів, відновлює процеси накопичення глікогену, запобігає розвитку жирової дистрофії печінки.

2. За гістологічними показниками, що вивчали, засіб Панкрео-Плант перевершує ефективність препарату порівняння силімарин. Це можна пояснити полімодальною фармакологічною дією багатокомпонентного рослинного засобу.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Національного фармацевтичного університету: «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», № держреєстрації 0114U000956.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

## Відомості про автора:

Трутаєва Л. М., аспірантка каф. клінічної фармакології, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.  
ORCID: [0000-0003-0164-373X](https://orcid.org/0000-0003-0164-373X)

## Information about author:

Trutaieva L. M., Postgraduate Student of the Department of Clinical Pharmacology, Institute of Pharmacy Professionals Continuing Education, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

## Сведения об авторе:

Трутаева Л. Н., аспирант каф. клинической фармакологии, Институт повышения квалификации специалистов фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

## Список літератури

- [1] Alcoholic disease: liver and beyond / A. Rocco, D. Compare, D. Angrisani et al. *World journal of gastroenterology*. 2014. Vol. 20, Iss. 40. P. 14652-14659. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14652>
- [2] Incidence, presentation, and outcomes in patients with drug-induced liver injury in the general population of Iceland / E. S. Björnsson, O. M. Bergmann, H. K. Björnsson et al. *Gastroenterology*. 2013. Vol. 144, Iss. 7. P. 1419-e20. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.006>
- [3] Oxidative stress/reactive metabolite gene expression signature in rat liver detects idiosyncratic hepatotoxicants / A. Leone, A. Nie, J. Brandon Parker et al. *Toxicology and applied pharmacology*. 2014. Vol. 275, Iss. 3. P. 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.01.017>
- [4] Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study / C. Sgro, F. Clinard, K. Ouazir et al. *Hepatology*. 2002. Vol. 36, Iss. 2. P. 451-455. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.34857>
- [5] Zimmerman H. J. Drug-induced liver disease. *Clinics in liver disease*. 2000. Vol. 4, Iss. 1. P. 73-vi. [https://doi.org/10.1016/s1089-3261\(05\)70097-0](https://doi.org/10.1016/s1089-3261(05)70097-0)
- [6] Risk of Acute Liver Failure in Patients With Drug-Induced Liver Injury: Evaluation of Hy's Law and a New Prognostic Model / V. Lo Re, 3rd, K. Haynes, K. A. Forde et al. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2015. Vol. 13, Iss. 13. P. 2360-2368. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.06.020>
- [7] Bunchorntavakul C., Reddy K. R. Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013. Vol. 37, Iss. 1. P. 3-17. <https://doi.org/10.1111/apt.12109>
- [8] Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States / G. Ostapowicz, R. J. Fontana, F. V. Schiødt et al. *Annals of internal medicine*. 2002. Vol. 137, Iss. 12. P. 947-954. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-12-200212170-00007>
- [9] Drug-induced liver injury caused by intravenously administered medications: the Drug-induced Liver Injury Network experience / M. Ghabril, R. Fontana, D. Rockey et al. *Journal of clinical*

- gastroenterology*. 2013. Vol. 47, Iss. 6. P. 553-558. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318276bf00>
- [10] Резников О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія*. 2003. Т. 8, № 1. С. 142-145.
- [11] Легалон (Legalon). Компендіум. URL : <https://compendium.com.ua/dec/343618/>
- [12] AnalystSoft Inc., StatPlus : [програма статистичного аналізу]. Версія 6. AnalystSoft Inc. URL : <http://www.analystsoft.com/en/>
- [13] Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. реком. / ред. О. В. Стефанов. Київ : Авіцена, 2001. 527 с.
- [14] Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. Москва : Медицина, Ленингр. отд., 1969. 424 с.
- [15] Пирс Э. Гистохимия. Москва : Иностр. литература, 1962. 967 с.
- [16] *Arctium lappa* and *Arctium tomentosum*, Sources of *Arctii radix*: Comparison of Anti-Lipoxygenase and Antioxidant Activity as well as the Chemical Composition of Extracts from Aerial Parts and from Roots / W. Skowrońska, S. Granica, M. Dziedzic et al. *Plants*. 2021. Vol. 10, Iss. 1. P. 78. <https://doi.org/10.3390/plants10010078>
- [17] Total sesquiterpene lactones prepared from *Inula helenium* L. has potentials in prevention and therapy of rheumatoid arthritis / S. Gao, Q. Wang, X. H. Tian et al. *Journal of ethnopharmacology*. 2017. Vol. 196. P. 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.020>
- [18] *Agrimonia eupatoria* L. (Agrimony) Extract Alters Liver Health in Subjects with Elevated Alanine Transaminase Levels: A Controlled, Randomized, and Double-Blind Trial / Y. M. Cho, J. E. Kwon, M. Lee et al. *Journal of medicinal food*. 2018. Vol. 21, Iss. 3. P. 282-288. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.4054>
- [19] Mohammadhosseini M., Sarker S. D., Akbarzadeh A. Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review. *Journal of ethnopharmacology*. 2017. Vol. 199. P. 257-315. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.010>
- [20] Detailed Biological and Chemical Investigation of Sixteen *Achillea* Species' Essential Oils via Chemometric Approach / I. Yener, M. A. Yilmaz, O. T. Olmez et al. *Chemistry & biodiversity*. 2020. Vol. 17, Iss. 3. P. e1900484. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900484>
- [21] Chamomile (*Matricaria recutita* L.) and diabetes mellitus, current knowledge and the way forward: A systematic review / F. Hajizadeh-Sharafabad, P. Varshosaz, H. Jafari-Vayghan et al. *Complementary therapies in medicine*. 2020. Vol. 48. P. 102284. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102284>
- [22] Comparison of Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Different Parts of *Taraxacum mongolicum* / L. Duan, C. Zhang, Y. Zhao et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25, Iss. 14. P. 3260. <https://doi.org/10.3390/molecules25143260>
- [23] Bailey C. J. Metformin: historical overview. *Diabetologia*. 2017. Vol. 60, Iss. 9. P. 1566-1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>
- [7] Bunchorntavakul, C., & Reddy, K. R. (2013). Review article: herbal and dietary supplement hepatotoxicity. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 37(1), 3-17. <https://doi.org/10.1111/apt.12109>
- [8] Ostapowicz, G., Fontana, R. J., Schiødt, F. V., Larson, A., Davern, T. J., Han, S. H., McCashland, T. M., Shakil, A. O., Hay, J. E., Hynan, L., Crippin, J. S., Blei, A. T., Samuel, G., Reisch, J., Lee, W. M., & U.S. Acute Liver Failure Study Group (2002). Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Annals of internal medicine*, 137(12), 947-954. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-12-200212170-00007>
- [9] Ghabril, M., Fontana, R., Rockey, D., Jiezhun, G., & Chalasani, N. (2013). Drug-induced liver injury caused by intravenously administered medications: the Drug-induced Liver Injury Network experience. *Journal of clinical gastroenterology*, 47(6), 553-558. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318276bf00>
- [10] Rieznykov, O. H. (2003). Zahalni etychni pryntsyypy eksperymentiv na tvarynakh [General ethical principles of animal experiments]. *Endokrynolohiia*, 8(1), 142-145. [in Ukrainian].
- [11] Legalon (n.d.). *Compendium*. <https://compendium.com.ua/dec/343618/>
- [12] AnalystSoft Inc. (n.d.). *StatPlus* (Ver 6). <http://www.analystsoft.com/en/>
- [13] Stefanov O. V. (Ed.). (2001). Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs]. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian].
- [14] Merkulov, G. A. (1969). *Kurs patologogistologicheskoi tekhniki* [Course of Histopathological Technique]. Moscow: Meditsina. [In Russian].
- [15] Pirs, E. (1962). *Gistokhimiya* [Histochemistry]. Moscow: Foreign literature [in Russian].
- [16] Skowrońska, W., Granica, S., Dziedzic, M., Kurkowiak, J., Ziąja, M., & Bazyłko, A. (2021). *Arctium lappa* and *Arctium tomentosum*, Sources of *Arctii radix*: Comparison of Anti-Lipoxygenase and Antioxidant Activity as well as the Chemical Composition of Extracts from Aerial Parts and from Roots. *Plants*, 10(1), 78. <https://doi.org/10.3390/plants10010078>
- [17] Gao, S., Wang, Q., Tian, X. H., Li, H. L., Shen, Y. H., Xu, X. K., Wu, G. Z., Hu, Z. L., & Zhang, W. D. (2017). Total sesquiterpene lactones prepared from *Inula helenium* L. has potentials in prevention and therapy of rheumatoid arthritis. *Journal of ethnopharmacology*, 196, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.020>
- [18] Cho, Y. M., Kwon, J. E., Lee, M., Lea, Y., Jeon, D. Y., Kim, H. J., & Kang, S. C. (2018). *Agrimonia eupatoria* L. (Agrimony) Extract Alters Liver Health in Subjects with Elevated Alanine Transaminase Levels: A Controlled, Randomized, and Double-Blind Trial. *Journal of medicinal food*, 21(3), 282-288. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.4054>
- [19] Mohammadhosseini, M., Sarker, S. D., & Akbarzadeh, A. (2017). Chemical composition of the essential oils and extracts of *Achillea* species and their biological activities: A review. *Journal of ethnopharmacology*, 199, 257-315. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.010>
- [20] Yener, I., Yilmaz, M. A., Olmez, O. T., Akdeniz, M., Tekin, F., Hasimi, N., Alkan, M. H., Ozturk, M., & Ertas, A. (2020). A Detailed Biological and Chemical Investigation of Sixteen *Achillea* Species' Essential Oils via Chemometric Approach. *Chemistry & biodiversity*, 17(3), e1900484. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900484>
- [21] Hajizadeh-Sharafabad, F., Varshosaz, P., Jafari-Vayghan, H., Alizadeh, M., & Maleki, V. (2020). Chamomile (*Matricaria recutita* L.) and diabetes mellitus, current knowledge and the way forward: A systematic review. *Complementary therapies in medicine*, 48, 102284. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102284>
- [22] Duan, L., Zhang, C., Zhao, Y., Chang, Y., & Guo, L. (2020). Comparison of Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Different Parts of *Taraxacum mongolicum*. *Molecules*, 25(14), 3260. <https://doi.org/10.3390/molecules25143260>
- [23] Bailey C. J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60(9), 1566-1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>





## Фармакоекономічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців із хронічним бронхітом

О. В. Плешкова<sup>1, A, B, D</sup>, О. В. Белозорова<sup>1, A, C, D, F</sup>, М. В. Білоус<sup>1, C, E, F</sup>, Д. В. Дроздов<sup>1, C, E</sup>, А. В. Нікітюк<sup>2, A, B, D</sup>

<sup>1</sup>Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна, <sup>2</sup>71 військовий мобільний госпіталь, м. Київ, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Незважаючи на першість бронхіту у структурі захворюваності органів дихання серед військовослужбовців, все-таки його перебіг має певні відмінності, що зумовлені особливостями військової служби. Тому все більшого медико-соціального значення набуває оптимізація витрат на забезпечення військовослужбовців лікарськими засобами. Обґрунтований вибір лікарських засобів під час лікування хронічного бронхіту – результат вибору ефективних і безпечних препаратів, враховуючи вартісну складову для військової охорони здоров'я.

**Мета роботи** – здійснити фармакоекономічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців із хронічним бронхітом.

**Матеріали та методи.** Матеріал дослідження – база даних зареєстрованих в Україні лікарських засобів, що представлена на офіційному сайті Державної установи «Державний експертний центр» Міністерства охорони здоров'я України. Під час дослідження використовували метод «вартість – ефективність», який дає змогу зіставити вартість на певну методику лікування та ефективність обраного методу.

**Результати.** Запропонували схему методики виконання фармакоекономічного аналізу. За попередньо сформованим переліком лікарських засобів для лікування військовослужбовців із хронічним бронхітом проаналізували запропоновану номенклатуру лікарських засобів шляхом здійснення експертного опитування. В результаті обрахунку коефіцієнта ефективності в межах кожної фармакотерапевтичної групи запропонували перелік оптимальних лікарських засобів для лікування хронічного бронхіту, що складається з 10 позицій.

**Висновки.** Фармакоекономічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців – конструктивне рішення у процесі визначення потенційних підприємств-постачальників лікарських засобів для задоволення потреб медичної служби Збройних Сил України. За результатами фармакоекономічного аналізу медикаментозного забезпечення військовослужбовців із хронічним бронхітом сформувавши рекомендаційний перелік лікарських засобів, однак його можна розширити шляхом додавання лікарських засобів із найбільшим показником ефективності – сумарною бальною експертною оцінкою ефективності. Надалі цей перелік може стати основою для включення у клінічні протоколи надання медичної допомоги та розроблення вартісних нормативів за відповідними нозологічними формами; це сприятиме підвищенню ефективності та якості лікування, економічним зискам.

**Ключові слова:** захворювання органів дихання, військовослужбовці, хронічний бронхіт, фармакоекономічний аналіз, лікарські засоби.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 336–342**

### Pharmacoeconomic analysis of drug supply of the military personnel with chronic bronchitis

O. V. Plieshkova, O. V. Bielozorova, M. V. Bilous, D. V. Drozdov, A. V. Nikitiuk

Despite the superiority of bronchitis in the structure of respiratory diseases in the military personnel, its course develops with certain peculiarities due to the peculiarities of military service. Consequently, the optimization of the costs of providing the military personnel with medicines is becoming more and more of medical and social importance. Reasonable selection of medicines in the treatment of chronic bronchitis is the result of the choice of effective and safe drugs, considering the cost of the components for military health care.

**Aim.** To perform a pharmacoeconomic analysis of drug supply to the military personnel with chronic bronchitis.

**Materials and methods.** The materials of the study were a database of drugs registered in Ukraine, presented on the official website of the State Institution "State Expert Center" of the Ministry of Health of Ukraine. The study employed "cost – effectiveness" method, which allows comparing the cost of a particular treatment method and its effectiveness.

**Results.** The scheme of the pharmacoeconomic analysis method has been offered. According to the results of the previously formed list of drugs for the treatment of military personnel with chronic bronchitis, a further analysis of the proposed range of drugs is conducted using

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/241270>

UDC 615.4:355.311.1:616.233-002.2]:339.13

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.241270](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.241270)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 336–342

**Key words:** respiratory diseases, military personnel, chronic bronchitis, pharmacoeconomic analysis, drugs.

\*E-mail: [oksana.bielozorova@gmail.com](mailto:oksana.bielozorova@gmail.com)

Received: 03.09.2021 // Revised: 21.09.2021 // Accepted: 11.10.2021

an expert survey. By calculating the efficacy ratio within each presented pharmacotherapeutic group, a 10-item list of the most optimal drugs for the treatment of chronic bronchitis has been compiled.

**Conclusions.** Pharmacoeconomic analysis of medical supply to the military personnel is a constructive solution in the process of identifying manufacturers as potential suppliers of medicines to cover the needs of the medical service of the Armed Forces of Ukraine. Based on the results of the pharmacoeconomic analysis of the drug supply to military personnel with chronic bronchitis, a recommended list of drugs for their treatment has been formed. However, this list can be expanded to include drugs with the highest efficacy – according to the expert assessment. In the future it may become the basis for inclusion of drugs in the clinical protocols of medical care and could be used for the development of cost standards for the relevant nosological forms, which will improve the efficiency and quality of treatment and will provide economic benefits.

**Key words:** respiratory diseases, military personnel, chronic bronchitis, pharmacoeconomic analysis, drugs.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 336–342**

### Фармакоэкономический анализ медикаментозного обеспечения военнослужащих с хроническим бронхитом

О. В. Плешкова, О. В. Белозёрова, М. В. Белоус, Д. В. Дроздов, А. В. Никитюк

Несмотря на первенство бронхита в структуре заболеваемости органов дыхания среди военнослужащих, все же его течение имеет определенные отличия, обусловленные особенностями военной службы. Значит, все большее медико-социальное значение приобретает оптимизация расходов на обеспечение военнослужащих лекарственными средствами. Обоснованный выбор лекарственных средств при лечении хронического бронхита – результат выбора эффективных и безопасных препаратов с учётом стоимостной составляющей для военного здравоохранения.

**Цель работы** – провести фармакоэкономический анализ медикаментозного обеспечения военнослужащих с хроническим бронхитом.

**Материалы и методы.** Материал исследования – база данных зарегистрированных в Украине лекарственных средств, представленная на официальном сайте ГУ «Государственный экспертный центр» Министерства здравоохранения Украины. В ходе исследования использовали метод «стоимость – эффективность», который позволяет сопоставить стоимость на определённую методику лечения и эффективность выбранного метода.

**Результаты.** Предложена схема методики проведения фармакоэкономического анализа. По предварительно сформированному перечню лекарственных средств для лечения военнослужащих с хроническим бронхитом проведён анализ предложенной номенклатуры лекарственных средств путём проведения экспертного опроса. В результате вычисления коэффициента эффективности в пределах каждой представленной фармакотерапевтической группы предложен перечень оптимальных лекарственных средств для лечения хронического бронхита, который включает 10 позиций.

**Выводы.** Фармакоэкономический анализ медикаментозного обеспечения военнослужащих – конструктивное решение в процессе определения потенциальных предприятий-поставщиков лекарственных средств для покрытия потребностей медицинской службы Вооружённых Сил Украины. В результате фармакоэкономического анализа медикаментозного обеспечения военнослужащих с хроническим бронхитом сформирован рекомендательный перечень лекарственных средств. Однако он может быть расширен за счёт лекарственных средств с наибольшим показателем эффективности – суммарной балльной экспертной оценкой эффективности. В дальнейшем он может стать основой для включения в клинические протоколы оказания медицинской помощи и разработки стоимостных нормативов по соответствующим нозологическим формам, что будет способствовать повышению эффективности и качества лечения, экономическим выгодам.

**Ключевые слова:** заболевания органов дыхания, военнослужащие, хронический бронхит, фармакоэкономический анализ, лекарственные средства.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 336–342**

В останні десятиліття у світі спостерігають збільшення кількості стихійних лих, техногенних катастроф, транспортних аварій, воєнних конфліктів, епідемій, що негативно позначаються на здоров'ї та життєдіяльності кожної людини. Упродовж останніх років захворювання органів дихання (ЗОД) посідають третє – четверте місце після травматизму, серцево-судинних патологій і пухлинних процесів. Їхня кількість неухильно зростає у структурі не тільки захворюваності, але й інвалідизації та смертності [1,2,9,10,15,19,20].

Хвороби дихальної системи (бронхіт, запалення легень, трахеїт, ларингіт, плеврит, гострі респіраторні захворювання тощо) доволі поширені на всіх континентах у різних прошарках населення незалежно від статі, віку. Більшість гострих захворювань дихальних шляхів і ле-

гень спричинені вірусами, бактеріями та паразитарними грибами. Важливе значення в розвитку захворювань дихальної системи має хронічний бронхіт (ХБ).

ХБ – одне з найпоширеніших захворювань у військово-службовців, особливо строкової служби. У структурі захворюваності органів дихання у військовослужбовців бронхіт посідає перше місце (рис. 1).

ХБ у військовослужбовців розвивається з певними відмінностями, що спричинені особливостями військової служби [2,10,18]. На виникнення та перебіг захворювання впливають фактори: контакт особового складу з бензином і паливом для ракет, переохолодження, синдром еколого-професійного перенапруження, що пов'язаний зі змінами клімато-географічних умов проживання [15,19–21]. Крім того, виявили важливу роль «фактора

перемішування», що підтверджується постійністю збігу строків підвищення захворюваності із часом призову (вересень – листопад і травень – червень). Виявили сезонні підвищення захворюваності на ХБ у військовослужбовців строкової служби з піком у жовтні – листопаді. Встановили кореляційний зв'язок між кількістю хворих і строком служби: найбільшу захворюваність спостерігають протягом перших 4 місяців.

Важливий фактор, який посилює тяжкість перебігу ХБ у військовослужбовців строкової служби, – дефіцит маси тіла. У таких хворих виявили збільшення частоти тяжких варіантів захворювання в 1,9 раза та частоти ускладнених форм у 2,3 раза порівняно з пацієнтами без дефіциту маси тіла, а також удвічі більшу частоту розвитку інфекційно-токсичного шоку й ексудативного плевриту [11].

У військовослужбовців строкової служби в 52,5 % випадків виникають повторні ХБ, що мають тяжчий перебіг порівняно з бронхітом без схильності до повторення. Спостерігають залежне від кількості попередніх ЗОД зменшення інтервалу між ХБ із  $7,7 \pm 1,0$  місяця після першого випадку захворювання до  $4,3 \pm 0,6$  місяця після п'ятого. Виявили, що для хворих на повторні ХБ характерний розвиток структурних змін бронхів, що свідчить про хронізацію запального процесу та збільшення його активності. Частота та вираженість морфологічних змін зростають зі збільшенням частоти повторних бронхітів [16–18,21].

Наведені факти зумовлюють актуальність дослідження порушеної теми.

## Мета роботи

Здійснити фармакоеконічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців із хронічним бронхітом.

## Матеріали і методи дослідження

Вибір методу аналізу – важливий етап будь-яких комплексних досліджень, що спрямований на визначення та обґрунтування доцільності застосування певних методик згідно з поставленими цілями. Зважаючи на це, серед розмаїття методів фармакоеконічного аналізу обрали метод «вартість – ефективність», який дає змогу зіставити вартість на певну методику лікування та ефективність обраного методу.

Розробили методику здійснення дослідження, яка наведена як блок-схема на рис. 2.

Ефективність лікування можна визначити за допомогою двох основних підходів. Перший передбачає формування оптимізованого переліку лікарських засобів (ЛЗ) для лікування військовослужбовців із ХБ. У межах другого порівнюють обрані препарати з нормативними документами, що затверджують номенклатуру ЛЗ, дозволених до реалізації в закладах охорони здоров'я Міністерства оборони України.

Перший етап передбачає визначення основних фармакотерапевтичних груп ЛЗ для лікування військо-



Рис. 1. Структура захворюваності органів дихання у військовослужбовців.

вослужбовців із ХБ. Проаналізували відомості щодо медикаментозного забезпечення військовослужбовців із ХБ і визначили перелік фармакотерапевтичних груп ЛЗ. На другому етапі виконали маркетинговий аналіз вітчизняного ринку ЛЗ для лікування військовослужбовців із ХБ. У результаті уклали перелік препаратів за фармакологічними групами з визначеними виробниками. На його основі надалі буде визначена номенклатура препаратів для лікування військовослужбовців із ХБ [1,3,11–13].

Складові фармакоеконічного аналізу у групах дослідження:

- порівняльний аналіз клінічної ефективності;
- порівняльний аналіз перспективності;
- порівняльний аналіз загальної вартості лікування.

Завершальний етап фармакоеконічних досліджень передбачає аналіз запропонованої номенклатури шляхом здійснення експертного опитування. Його результати засновані на узагальненні думки компетентних фахівців щодо ефективного у клінічному аспекті та перспективного використання дієвих лікарських засобів, що застосовують під час лікування ХБ у військовослужбовців.

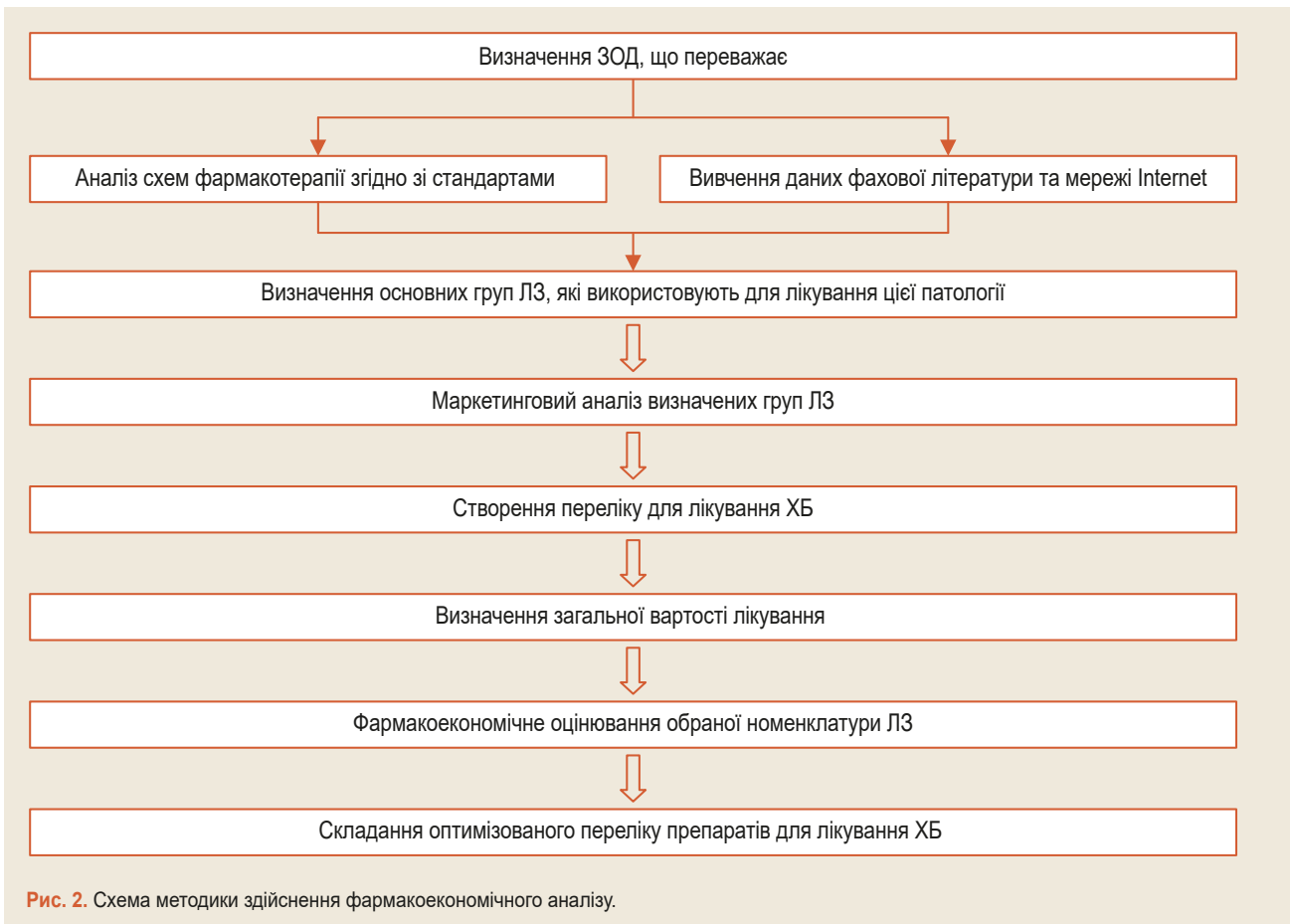
Анкетне опитування здійснили анонімно серед 20 лікарів-терапевтів, хірургів і лікарів загальної практики, які працюють у закладах охорони здоров'я, з досвідом роботи не менше ніж 5 років.

Анкета складалася з переліку ЛЗ, які використовують під час лікування ХБ. Оцінки визначали за 10-бальною шкалою. ЛЗ необхідно було оцінити за двома показниками: ефективність (0 – неефективні, 5 – відносно ефективні, 10 – цілком ефективні) та перспективність (0 – неперспективні, 5 – відносно перспективні, 10 – цілком перспективні). Після опрацювання анкет отримали 20 незалежних оцінок для кожного препарату.

Наступний етап – ранжування даних незалежних експертів, яке уклали провідні фахівці.

Для визначення мінімальної кількості експертів розраховували, що вірогідність розбіжностей між похибками у групах експертів перестає бути значущою, якщо кількість експертів у групі становить 8 і більше. Отже, для одержання достовірних висновків експертів достатньо залучити 9 осіб.

Надалі визначили показник витрат на використання препарату до його ефективності. Після визначення



ефективності препаратів обраховували коефіцієнт ефективності за формулою (1).

$$K_{\text{еф}} = V_{\text{сх}} / E_{\text{ф}} \quad (1)$$

де  $K_{\text{еф}}$  – коефіцієнт ефективності;

$V_{\text{сх}}$  – загальна вартість лікування;

$E_{\text{ф}}$  – ефективність лікування, визначена експертами.

## Результати

За результатами опитування та врахувавши рекомендації експертів сформувавши два переліки ЛЗ для лікування ХБ у військовослужбовців. До складу переліків увійшли ЛЗ, що є найефективнішими та найчастіше використовуються під час лікування ХБ, а також включили препарати для усунення можливих побічних ефектів [12,13,17].

Наступний етап – фармакоеконімічне дослідження методом «вартість – ефективність» шляхом визначення експертами показників ефективності запропонованої номенклатури ЛЗ для лікування військовослужбовців із ХБ [4–7]. Кількісний показник ефективності – питома вага пацієнтів, які відзначили поліпшення самопочуття після лікування до загальної кількості пацієнтів.

Під час дослідження номенклатури ЛЗ, що запропонована для використання у ЗС України, визначили препарати, що є застарілими та застосовуються в лікуванні лише поодинокими випадками ХБ. Це пов'язано насамперед

із розвитком резистентності, побічними ефектами та незручністю використання.

Результати визначення оптимальних ЛЗ у групах для лікування ХБ методом «вартість – ефективність» наведені в таблиці 1. Для розрахунків використали ціни з Реєстру оптово-відпускних цін на лікарські засоби станом на 01.03.2021 р. [3,8,13,14].

## Обговорення

У результаті фармакоеконімічного дослідження методом «вартість – ефективність» сформувавши перелік ЛЗ для лікування військовослужбовців із ХБ, який включає 10 позицій:

1. Амоксицилін + кислота клавуланова, таблетки 0,5/0,125;
2. Цефтріаксон флакони, 1,0;
3. Цетиризину дигідрохлорид, таблетки 0,01;
4. L-цет, таблетки 0,005;
5. Лінекс, капсули;
6. Амброксол, таблетки 0,03;
7. Диклофенак натрію, таблетки 0,05;
8. Гропринозин, таблетки 0,5;
9. Новірин, таблетки 0,5;
10. Дротаверин, ампули 2% – 2,0.

ЛЗ із цього переліку характеризуються найбільшими показниками ефективності у своїй фармакотерапевтичній



**Таблиця 1.** Результати фармакоеконічного аналізу ЛЗ для лікування ХБ методом «вартість – ефективність»

Найменування ЛЗ	ЛФ/доза	Ефективність застосування (заг. кількість балів)	Вартість на курс лікування, грн	Коефіцієнт ефективності
Амоксицилін + кислота клавуланова	таб. 0,5/0,125	200,00	80,55	0,60
Цефазолін	фл. 1,0	160,00	140,00	0,88
Амоксицилін	таб. 0,5	115,00	74,48	0,68
Ципрофлоксацин	таб. 0,5	200,00	114,50	0,86
Цефтріаксон	фл. 1,0	200,00	177,70	0,62
Офлоксацин	фл. 0,2 % – 100,0	125,00	40,00	2,24
Ципрофлоксацин	фл. 0,2 % – 100,0	200,00	54,40	1,63
Біцилін-5	фл. 1500000 ОД	50,00	60,00	3,60
Азитроміцин	таб. 0,5	140,00	150,00	3,21
Бензилпеніцилін	фл. 1,0	30,00	10,40	12,13
Лоратадин	таб. 0,01	10,00	12,75	0,89
Цетиризину дигідрохлорид	таб. 0,01	200,00	49,60	0,09
Дифенгідрамін	амп. 1 % – 1,0	50,00	15,30	0,21
L-цет	таб. 0,005	180,00	89,19	0,17
Пробіотик	капс.	110,00	60,70	0,28
Лінекс	капс.	200,00	102,00	0,26
Пробіотик екстра	таб. 0,0138	135,00	110,00	0,41
Амброксол	таб. 0,03	200,00	22,00	0,08
Кодеїну фосфат	таб. 0,003 г	130,00	35,00	0,13
Сальбутамол	аерозоль 100 мкг	200,00	70,69	0,35
Лібексин	таб. 0,1	150,00	68,22	0,23
Ацетилцистеїн	порошок орального розчину 0,2	200,00	42,00	0,38
Кеторолак	таб. 0,01	150,00	25,17	0,17
Диклофенак натрію	таб. 0,05	120,00	6,00	0,06
Парацетамол	таб. 0,5	170,00	12,35	0,13
Мефенамінова кислота	таб. 0,5	100,00	65,90	1,19
Німесулід	саше 5,0	110,00	7,75	1,27
Озельтамівір	капс. 0,075	180,00	283,00	1,57
Гропринозин	таб. 0,5	190,00	285,75	0,84
Ацикловір	таб. 0,4	155,00	283,12	1,46
Новірин	таб. 0,5	170,00	95,82	0,79
Рибавірин	таб. 0,4	20,00	200,50	9,36
Валацикловір	таб. 0,5	185,00	568,55	2,05
Дротаверин	амп. 2 % – 2,0	160,00	17,55	0,09
Парацетамол, к-та аскорбінова, фенілефрину г/х, феніраміну maleат	саше 23,0	200,00	30,35	0,21
Дротаверин	таб. 0,04	155,00	18,60	0,19

групі, а отже є економічно доцільними. Але якщо визначальним критерієм включення до переліку ЛЗ обрати власне ефективність, тобто сумарну бальну оцінку експертів (її найвищі показники), то цей перелік буде таким:

1. Ципрофлоксацин, таблетки 0,5;
2. Ципрофлоксацин, флакони 0,2 % – 100,0;
3. Сальбутамол, аерозоль 100 мкг;

4. Ацетилцистеїн, порошок орального розчину 0,2;
5. Кеторолак, таблетки 0,01;
6. Парацетамол, таблетки 0,5;
7. Озельтамівір, капсули 0,075;
8. Валацикловір, таблетки 0,5;
9. Парацетамол, кислота аскорбінова, фенілефрину гідрохлорид, феніраміну maleат, саше 23,0.

Визначення вартості запропонованих переліків ЛЗ дало підстави в економічному аспекті віддати перевагу першому переліку ЛЗ із загальною вартістю на курс лікування 926,16 грн, а за другим переліком вона становила 1201,01 грн (у 1,3 раза дорожче).

## Висновки

1. Фармакоеконічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців – конструктивне рішення у процесі визначення потенційних підприємств-постачальників ЛЗ для задоволення потреб медичної служби ЗС України.

2. Здійснили фармакоеконічний аналіз медикаментозного забезпечення військовослужбовців із хронічним бронхітом методом «вартість – ефективність», за результатами якого сформувавши рекомендаційний перелік ЛЗ, який складається із 10 позицій. Але цей перелік можна розширити шляхом додавання лікарських засобів із найбільшим показником ефективності – сумарною бальною експертною оцінкою ефективності.

3. Результати дослідження можуть стати основою для включення у клінічні протоколи надання медичної допомоги та розроблення вартісних нормативів за відповідними нозологічними формами; це сприятиме підвищенню ефективності та якості лікування, економічним зискам.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Української військово-медичної академії: «Фармакоеконічне обґрунтування формулярних переліків лікарських засобів для забезпечення хірургічних підрозділів медичних закладів Збройних Сил України», № держреєстрації 0114U003806.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflicts of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Плешкова О. В., канд. фарм. наук, старший викладач каф. військової фармації, Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна. ORCID ID: [0000-0002-9000-7358](https://orcid.org/0000-0002-9000-7358)

Белозорова О. В., канд. фарм. наук, начальник науково-організаційного відділення, Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна. ORCID ID: [0000-0001-7257-3965](https://orcid.org/0000-0001-7257-3965)

Білоус М. В., д-р фарм. наук, доцент, професор каф. військової фармації, Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна. ORCID ID: [0000-0002-4370-8813](https://orcid.org/0000-0002-4370-8813)

Дроздов Д. В., канд. фарм. наук, доцент каф. військової фармації, Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна. ORCID ID: [0000-0002-7769-750X](https://orcid.org/0000-0002-7769-750X)

Нікітюк А. В., начальник відділення медичного постачання, 71 військовий мобільний госпіталь, м. Київ, Україна.

## Information about authors:

Plieshkova O. V., PhD, Senior Lecturer of the Department of Military Pharmacy, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Bielozorova O. V., PhD, Head of the Scientific and Organizational Department, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Bilous M. V., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Military Pharmacy, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Drozdov D. V., PhD, Associate Professor of the Department of Military Pharmacy, Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Nikituk A. V., Head of the Department of Medical Supply, 71 Military Mobile Hospital, Kyiv, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Плешкова О. В., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. военной фармации, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев, Украина.

Белозорова О. В., канд. фарм. наук, начальник научно-организационного отделения, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев, Украина.

Белоус М. В., д-р фарм. наук, доцент, профессор каф. военной фармации, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев, Украина.

Дроздов Д. В., канд. фарм. наук, доцент каф. военной фармации, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев, Украина.

Никитюк А. В., начальник отделения медицинского снабжения, 71 военный мобильный госпиталь, г. Киев, Украина.

## Список літератури

- [1] Клячкина И. Л. Хронический бронхит: фармакотерапевтический фокус на гиперсенситивный компонент кашля. *Consilium Medicum*. 2020. Т. 22, № 3. С. 46-54. <https://doi.org/10.26442/20751753.2020.3.200055>
- [2] Стефанюк М. Ф. Морфофункциональный стан бронхів, зміни загального імунітету та неспецифічного клітинного захисту легень при повторних бронхопневмоніях у військовослужбовців строкової служби : автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.27 / Інститут фізіотерії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського. Київ, 1999. 18 с.
- [3] Державний реєстр лікарських засобів України. URL : <http://www.driz.kiev.ua>
- [4] Кривов'яз О. В. Експертна оцінка лікарських засобів групи S01E «Протиглаукомні препарати та міотики». *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3. С. 32-38. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2016.3.6824>
- [5] Кухтенко О. С., Назаркіна В. М., Гладух Є. В. Фармакоеконічний аналіз доступності лікарських засобів для лікування захворювань дихальних шляхів. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 105-111. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.3.8114>
- [6] Матяшова Н. О., Герасимова О. О. Фармакоеконічний аналіз лікарських препаратів, які впливають на структуру та мінералізацію кісток. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 1. С. 56-61. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1481>
- [7] Соловйов С. О., Дзюблик І. В. Фармакоеконічний аналіз стратегії діагностики гострих вірусних інфекцій: операційні характеристики, методи та приклад оцінки. *Інфекційні хвороби*. 2016. № 1. С. 62-72. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2016.1.5963>
- [8] *Компендіум. Лікарські препарати*. URL : <http://compendium.com.ua>
- [9] Крамарьов С. О., Гречуха Є. О. Аспекти лікування інфекцій нижніх дихальних шляхів з погляду клінічних настанов різних країн (бронхіоліт, бронхіт, позагоспітальна пневмонія). *Актуальна інфектологія*. 2019. Т. 7, № 4. С. 181-188. <https://doi.org/10.22141/2312-413x.7.4.2019.178878>
- [10] Матюха Л. Ф., Титова Т. А., Тиш О. Б. Підходи до лікування кашлю при гострому бронхіті в амбулаторних умовах. *Сімейна медицина*. 2020. № 3. С. 67-74.
- [11] Котвіцька А. А., Коробова Є. С. Наукове обґрунтування моделі розробки рекомендованого переліку лікарських засобів для фармакотерапії гострого бронхіту у дітей раннього віку. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. № 4. С. 8-14. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2017.108325>
- [12] Кухтенко О. С., Гладух Є. В., Сімонян Л. С. Аналіз вітчизняного ринку лікарських засобів для лікування запальних захворювань дихальних шляхів. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2017. № 4. С. 42-49. <https://doi.org/10.24959/uekj.17.35>
- [13] Крамарьов С. О., Загородонець Л. В. Підходи до лікування захворювань нижніх дихальних шляхів: вибір антибактеріального препарату з урахуванням міжнародних рекомендацій. *Актуальна інфектологія*. 2018. Т. 6, № 6. С. 314-319.
- [14] Стадницька Н. Є. Асортимент лікарських препаратів для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, представлених на ринку України / Н. Є. Стадницька, А. О. Мильнич, І. С. Малтиз та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 1. С. 59-65. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.1.10971>
- [15] Петрухов О. Д. Комплексна фізична реабілітація студентів, хворих на хронічний бронхіт у період реконвалесценції : дис. ... канд. наук з фіз. вихов. і спорту: 24.00.03 / Харківська державна академія фізичної культури. Харків, 2020. 213 с.

- [16] Antibiotic treatment and factors influencing short and long term outcomes of acute exacerbations of chronic bronchitis / R. Wilson, P. Jones, T. Schaberg et al. *Thorax*. 2006. Vol. 61, Iss. 4. P. 337-342. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.045930>
- [17] Efficacy and safety of moxifloxacin in acute exacerbations of chronic bronchitis: a prospective, multicenter, observational study (AVANTI) / A. Chuchalin, M. Zakharova, D. Dokic et al. *BMC pulmonary medicine*. 2013. Vol. 13. P. 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-13-5>
- [18] Moxifloxacin versus amoxicillin/clavulanic acid in outpatient acute exacerbations of COPD: MAESTRAL results / R. Wilson, A. Anzueto, M. Miravittles et al. *The European respiratory journal*. 2012. Vol. 40, Iss. 1. P. 17-27. <https://doi.org/10.1183/09031936.00090311>
- [19] Prevalence and burden of chronic bronchitis symptoms: results from the BOLD study / F. Mejza, L. Gnatiuc, A. S. Buist et al. *The European respiratory journal*. 2017. Vol. 50, Iss. 5. P. 1700621. <https://doi.org/10.1183/13993003.00621-2017>
- [20] Managing patients with chronic cough: challenges and solutions / J. M. Perotin, C. Launois, M. Dewolf et al. *Therapeutics and clinical risk management*. 2018. Vol. 14. P. 1041-1051. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S136036>
- [21] Characteristics of COPD patients according to GOLD classification and clinical phenotypes in the Russian Federation: the SUPPORT trial / V. Arkhipov, D. Arkhipova, M. Miravittles et al. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2017. Vol. 12. P. 3255-3262. <https://doi.org/10.2147/COPD.S142997>
- [11] Kotvitska, A., & Korobova, E. (2017). Naukove obruntuвання modeli rozrobky rekomendovanoho pereliku likarskykh zasobiv dlia farmakoterapii hostroho bronkhitu u ditei rannoho viku [Scientific substantiation of the model of the drugs' recommended list development for pharmacotherapy of acute bronchitis in children of early age]. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. (4), 8-14. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2017.108325>
- [12] Kukhtenko, O. S., Gladukh, Ie. V., & Simonian, L. S. (2017). Analiz vitchyznianoho rynku likarskykh zasobiv dlia likuvannya zapalnykh zakhvoriuvan dykhalnykh shliakhiv [Domestic market analysis of medicinal products for treatment of inflammatory respiratory diseases]. *Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii*, (4), 42-49. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.24959/uekj.17.35>
- [13] Kramarov, S. O., & Zakordonets, L. V. (2018). Pidkhody do likuvannya zakhvoriuvan nyzhnikh dykhalnykh shliakhiv: vybir antybakterialnogo preparatu z urakhuvanniam mizhnarodnykh rekomendatsii [Approaches to the treatment of diseases of the lower respiratory tract: choice of antibacterial preparation taking into account international recommendations]. *Aktualna infektolohiia*, 6(6), 314-319. [in Ukrainian].
- [14] Stadnytska, N. Ye., Mylyanych, A. O., Maltzy, I. S., Fito, I. V., Fedoryshyn, O. M., Komar, A. V., & Novikov, V. P. (2020). Asortyment likarskykh preparativ dlia likuvannya obstruktyvnykh zakhvoriuvan dykhalnykh shliakhiv, predstavlenykh na rynku Ukrainy [Range of medical products for treatment of obstructive respiratory diseases, presented on the market of Ukraine]. *Farmatsevtichnyi chasopys*, (1), 59-65. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.1.10971>
- [15] Petrukhov, A. D. (2020). *Kompleksna fizychna reabilitatsiia studentiv, khvorykh na khronichnyi bronkhit u period rekonvalescentsii* [Physical rehabilitation of students with chronic bronchitis during convalescence (Candidate's thesis)]. Kharkiv State Academy of Physical Culture. Kharkiv. [in Ukrainian].
- [16] Wilson, R., Jones, P., Schaberg, T., Arvis, P., Duprat-Lomon, I., Sagnier, P. P., & MOSAIC Study Group (2006). Antibiotic treatment and factors influencing short and long term outcomes of acute exacerbations of chronic bronchitis. *Thorax*, 61(4), 337-342. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.045930>
- [17] Chuchalin, A., Zakharova, M., Dokic, D., Tokic, M., Marschall, H. P., & Petri, T. (2013). Efficacy and safety of moxifloxacin in acute exacerbations of chronic bronchitis: a prospective, multicenter, observational study (AVANTI). *BMC pulmonary medicine*, 13, 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-13-5>
- [18] Wilson, R., Anzueto, A., Miravittles, M., Arvis, P., Alder, J., Haverstock, D., Trajanovic, M., & Sethi, S. (2012). Moxifloxacin versus amoxicillin/clavulanic acid in outpatient acute exacerbations of COPD: MAESTRAL results. *The European respiratory journal*, 40(1), 17-27. <https://doi.org/10.1183/09031936.00090311>
- [19] Mejza, F., Gnatiuc, L., Buist, A. S., Vollmer, W. M., Lamprecht, B., Obaseki, D. O., Nastalek, P., Nizankowska-Mogilnicka, E., Burney, P., BOLD collaborators, & BOLD study collaborators (2017). Prevalence and burden of chronic bronchitis symptoms: results from the BOLD study. *The European respiratory journal*, 50(5), 1700621. <https://doi.org/10.1183/13993003.00621-2017>
- [20] Perotin, J. M., Launois, C., Dewolf, M., Dumazet, A., Dury, S., Lebarry, F., Dormoy, V., & Deslee, G. (2018). Managing patients with chronic cough: challenges and solutions. *Therapeutics and clinical risk management*, 14, 1041-1051. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S136036>
- [21] Arkhipov, V., Arkhipova, D., Miravittles, M., Lazarev, A., & Stukalina, E. (2017). Characteristics of COPD patients according to GOLD classification and clinical phenotypes in the Russian Federation: the SUPPORT trial. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 12, 3255-3262. <https://doi.org/10.2147/COPD.S142997>

## References

- [1] Klyachkina, I. L. (2020). Khronicheskii bronkhit: farmakoterapevticheskii fokus na gipersensitivnyi komponent kashlya [Chronic bronchitis: pharmacotherapeutic focus on cough hypersensitivity component]. *Consilium Medicum*, 22(3), 46-54. [in Russian]. <https://doi.org/10.26442/20751753.2020.3.200055>
- [2] Stefaniuk, M. F. (1999). *Morfofunktsionalnyi stan bronkhiv, zminy zahalnoho imunitetu ta nespetsyfichnoho klitynnoho zakhystu lehen pry povtornykh bronkhopnevmoniiakh u viiskovosluzhbovtiv strokovoi sluzhby* (Avtoref. dys... kand. med. nauk: 14.01.27) [Morphofunctional condition of the bronchi, changes in general immunity and nonspecific cellular protection of the lungs in recurrent bronchopneumonia in conscripts (Extended abstract of candidate's thesis)]. Instytut fiziatrii i pulmonolohii im. F. H. Yanovskoho. Kyiv. [in Ukrainian].
- [3] *Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy* [State register of medicines of Ukraine]. [in Ukrainian]. <http://www.drlez.kiev.ua>
- [4] Kryvoviaz, O. V. (2016). Ekspertna otsinka likarskykh zasobiv hrupy S01E «Protyhlaukomni preparaty ta miotyky» [Expert evaluation of medicines from S01E pharmaceutical group «Antiglaucoma medicines and miotics»]. *Farmatsevtichnyi chasopys*, (3), 32-38. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2016.3.6824>
- [5] Kukhtenko, O. S., Nazarkina, V. M., & Gladukh, Y. V. (2017). Farmakoeconomichna otsinka dostupnosti likarskykh zasobiv dlia likuvannya zakhvoriuvan dykhalnykh shliakhiv [Pharmacoeconomic assessment of the availability of medicines for the treatment of respiratory diseases]. *Farmatsevtichnyi chasopys*, (3), 105-111. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.3.8114>
- [6] Matiashova, N. O., & Gerasymova O. O. (2019). Farmakoeconomichni analiz likarskykh preparativ, yaki vplyvaiut na strukturu ta mineralizatsiiu kistok [The pharmacoeconomic analysis of medicines affecting the bone structure and mineralization]. *Klinichna farmatsiia*, 23(1), 56-61. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1481>
- [7] Solovyov, S. O., & Dzyublyk, I. V. (2016). Farmakoeconomichni analiz stratehii diahnostryky hostrykh virusnykh infektsii: operatsiini kharakterystyky, metody ta pryklad otsinky [Pharmacoeconomic analysis of diagnosis strategies of acute viral infections: operating characteristics, methods of assessment and case study]. *Infektsiini khvory, (1)*, 62-72. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2016.1.5963>
- [8] *Kompendium. Likarski preparaty* [Compendium. Medicines]. [in Ukrainian]. <http://compendium.com.ua>
- [9] Kramarov, S. O., & Grechukha, Ye. O. (2019). Aspekty likuvannya infektsii nyzhnikh dykhalnykh shliakhiv z pohliadu klinichnykh nastanov riznykh krain (bronkhioolit, bronkhit, pozahospitalna pnevmoniiia) [Aspects of treatment of lower respiratory tract infections in terms of clinical guidelines of different countries (bronchiolitis, bronchitis, community-acquired pneumonia)]. *Aktualna infektolohiia*, 7(4), 181-188. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2312-413x.7.4.2019.178878>
- [10] Matyukha, L. P., Titova, T. A., & Tish, O. B. (2020). Pidkhody do likuvannya kashliu pry hostromu bronkhiti v ambulatornykh umovakh



## Формування попиту на контрацептиви з використанням методу ван Вестендорпа на підставі встановлення споживчої цінності

Т. В. Маганова \*

Запорізький державний медичний університет, Україна

Один із головних показників споживчої цінності товару – ціна. Її суперечлива ідеалістико-матеріалістична основа спрямована на забезпечення інтересів двох протилежностей – виробника/продавця та покупця. Цінові рішення, ухвалені з урахуванням потреб обох учасників фармацевтичного ринку, дадуть змогу ефективно регулювати процеси діяльності фармацевтичного бізнесу та системи забезпечення.

**Мета роботи** – апробація методу ван Вестендорпа на прикладі контрацептивів, встановлення їхньої споживчої цінності для ухвалення надалі раціональних рішень щодо удосконалення системи забезпечення протизаплідними засобами українських жінок-споживачів.

**Матеріали та методи.** У дослідженні використали маркетинговий метод ван Вестендорпа на основі анкетування квотної вибірки жінок репродуктивного віку одного з регіонів України. Основні розрахунки виконали в середовищі програмного забезпечення MS Excel 2010.

**Результати.** Опитування 420 жінок дало підстави встановити максимальні діапазони готовності платити (точки граничної дешевизни та дорожнечі) для усіх наявних фармацевтичних видів контрацепції (гормональної, негормональної, медичних виробів) у вікових і дохідних квотах. Встановили, що цінова чутливість залежить від соціально-економічних показників.

**Висновки.** Максимальні діапазони готовності платити, які встановили, істотно нижчі за ринкові ціни на контрацептиви. Виняток – дешеві та поширені протизаплідні засоби (аерозоль і чоловічий презерватив), що підтверджує необхідність використання маркетингових методів дослідження для задоволення потреб споживачів-жінок.

**Ключові слова:** контрацепція, готовність платити, метод ван Вестендорпа, вимірювання цінової чутливості.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 343–353**

### Formation of the demand for contraceptives using the Van Westendorp method based on establishing consumer value

T. V. Mahanova

One of the main indicators of the consumer value of a product is the price. Its controversial idealistic and materialistic basis is aimed at securing the interests of two opposites: producer-seller and buyer. Correctly made pricing decisions, taking into account the requirements of both players in the pharmaceutical market, will effectively regulate the processes of the pharmaceutical business and the supply system.

**The aim:** approbation of the Van Westendorp method on the example of contraceptives; establishing their consumer value for further rational decision-making regarding the improvement of the system for providing contraceptives to Ukrainian female consumers.

**Materials and methods.** The research used the marketing Van Westendorp method based on surveying a quota sample of women of reproductive age from one of the Ukrainian regions. The main calculations were performed with MS Excel 2010 software.

**Results.** The survey of 420 women enabled to set the maximum range of readiness to pay (the point of maximum cheapness and high cost) for the most advanced pharmaceutical types of contraception (hormonal, non-hormonal and medical products) in the age and income quotas. It was established that the price sensitivity depends on social and economic indicators.

**Conclusions.** The established maximal ranges of willingness to pay are well below market prices for contraceptives. The exception is cheap and widespread contraception (aerosol and male condom), which confirms the need to use marketing research methods to meet the needs of the female consumer.

**Key words:** contraceptive, willingness to pay, Van Westendorp method, price sensitivity meter.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 343–353**

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239753>

UDC 615.477.86/.87:339.133]:330.133.1

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239753](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239753)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 343–353**

**Key words:** contraceptive, willingness to pay, Van Westendorp method, price sensitivity meter.

\*E-mail: [bataneofarm@gmail.com](mailto:bataneofarm@gmail.com)

Received: 13.08.2021 // Revised: 08.09.2021 // Accepted: 21.09.2021



## Формирование спроса на контрацептивы с использованием метода ван Вестендорпа на основе установления потребительской ценности

Т. В. Маганова

Один из основных показателей потребительской ценности товара – цена. Ее спорная идеалистико-материалистическая основа направлена на обеспечение интересов двух противоположностей – производителя/продавца и покупателя. Верно принятые ценовые решения с учётом требований обоих участников фармацевтического рынка позволят эффективно регулировать процессы деятельности фармацевтического бизнеса и системы обеспечения.

**Цель работы** – апробация метода ван Вестендорпа на примере контрацептивов, установление их потребительской ценности для дальнейшего принятия рациональных решений относительно совершенствования системы обеспечения противозачаточными средствами украинских потребителей-женщин.

**Материалы и методы.** В исследовании использован маркетинговый метод ван Вестендорпа на основе анкетирования квотной выборки женщин репродуктивного возраста одного из регионов Украины. Основные расчёты проведены в среде программного обеспечения MS Excel 2010.

**Результаты.** Опрос 420 женщин позволил определить максимальные диапазоны готовности платить (точки граничной дешевизны и дороговизны) для всех существующих фармацевтических видов контрацепции (гормональной, негормональной, медицинских изделий) в возрастных и доходных квотах. Установлено, что ценовая чувствительность зависит от социально-экономических показателей.

**Выводы.** Установленные максимальные диапазоны готовности платить значительно ниже рыночных цен на контрацептивы. Исключение составляют дешевые и распространённые противозачаточные средства (аэрозоль и мужской презерватив), что подтверждает необходимость использования маркетинговых методов исследования для удовлетворения потребностей потребителей-женщин.

**Ключевые слова:** контрацепция, готовность платить, метод ван Вестендорпа, измерение ценовой чувствительности.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 343–353**

Нині охорону здоров'я суспільство сприймає як невіддільну складову рівня та якості життя, оскільки вона відіграє важливу роль в економічному розвитку держави, забезпечує відтворення та якість трудових ресурсів, створює базу для соціально-економічного зростання, є одним із забезпечувальних елементів національної безпеки країни. Тому принцип орієнтації на пацієнта покладений в основу охорони здоров'я багатьох країн.

У 2006 році в Барселоні ухвалена Декларація про пацієнтоорієнтовану медицину (Patient-centric approach to medicine). Головні її тези – повага до пацієнта, право обирати лікаря та свідома участь у виборі методів лікування, залучення пацієнтів до розроблення політики охорони здоров'я, доступ пацієнтів до медичних послуг, максимальна інформованість, прозорість і доступність комунікації [1].

Невіддільною складовою охорони здоров'я є фармація, а отже наведені принципи окреслюють напрями розвитку і для фармацевтичного сектора. Сучасна фармація покликана своєчасно забезпечити якісними та доступними ліками всіх, хто потребує медикаментозної терапії. Водночас фармацевтичні компанії мають враховувати економічну складову забезпечувального процесу, бути конкурентоздатними на ринку та формувати високий рівень лояльності споживачів. Така багатогранна діяльність фармацевтичних компаній (виробників ліків, гуртових фармацевтичних компаній, аптек) не можлива без використання сучасної маркетингової концепції, зокрема концепції холистичного маркетингу [2], а також урахування споживчої цінності фармацевтичного товару.

Поняття споживчої цінності товару вивчали науковці в різних господарських сферах протягом тривалого періоду. Так, Ф. Котлер присвятив свої наукові праці аналізу спо-

живчої цінності; К. Прахалад, В. Рамасвами досліджували питання щодо формування цінності, аналізуючи складові процеси її творення. На жаль, в українській фармацевтичній науці немає ґрунтовних досліджень у цій площині.

Цей напрям дослідження актуалізує також комплекс взаємопов'язаних факторів. Так, високий рівень розвитку технологій сприяє розширенню асортименту продукції, а наявність інформаційного забезпечення – вільному доступу споживачів до вичерпної інформації про ринок, якість і ціну товарів. Для фармацевтичних підприємств важливого значення набувають відносини та співпраця зі споживачами, у процесі якої перші отримують оперативну інформацію про потреби цільових ринків ліків, а другі – цінність фармацевтичної продукції, що максимально відповідає їхнім вимогам.

Серед показників споживчої цінності фармацевтичного товару важливу роль відіграє ціна. Подвійний характер ціни полягає в об'єднанні інтересів продавця (як окремого виробника, так цілої системи) та покупця (споживача) [3], тобто вона є сполучною ланкою між результатами діяльності фармацевтичних компаній (системи забезпечення) та споживачами. Тому цінові дослідження, що здійснюються фармацевтичними компаніями, були і залишаються одним із ключових етапів на шляху ухвалення управлінських рішень щодо ефективного регулювання діяльності фармацевтичного бізнесу та цілої системи забезпечення.

Іноземні й вітчизняні вчені здійснили дослідження щодо ціноутворення як розділу маркетингу [4], на підприємстві та ринку [5], процесів ціноутворення та регулювання такої діяльності [6,7], готовності до сплати та до сприйняття [8,9]. Серед цих робіт чимало досліджень присвячені вивченню ціни, що орієнтована на споживача, зокрема методу PSM. Він запропонований економістом

ван Вестендропом як непрямий метод дослідження та виявлення психологічних цін. Його активно удосконалюють [10,11], використовують в економіці [12,13], галузі освітніх послуг [14] тощо. Але цей доволі простий у виконанні економічний метод мало вивчали та застосовували у фармацевтичній науці та практиці.

## Мета роботи

Апробація методу ван Вестендорпа на прикладі контрацептивів, встановлення їхньої споживчої цінності для ухвалення надалі раціональних рішень щодо удосконалення системи забезпечення протизаплідними засобами українських жінок-споживачів.

## Матеріали і методи дослідження

Цінове дослідження здійснили, використавши метод ван Вестендорпа (PSM) на основі квотної вибірки жінок репродуктивного віку [15–17] Запорізької області України. Розмір сформованої квотної вибірки обґрунтований вимогами до здійснення дослідження методом PSM [18], а також дослідженнями соціологічного типу ( $N = 384369$ ;  $n = 384 \pm 19$ ) [19]. Вибірку квотували за трьома соціо-економічними показниками: вік, дохід на душу населення та освіта жінки. Відомості щодо обсягу квот за показниками отримали з державної служби статистики України [20].

За віковим показником сформувавши 7 квот: 16–19 років ( $n = 29$ ), 20–24 роки ( $n = 42$ ), 25–29 років ( $n = 60$ ), 30–34 роки ( $n = 78$ ), 35–39 років ( $n = 73$ ), 40–44 роки ( $n = 70$ ), 45–49 років ( $n = 68$ ). На підставі вікових квот сформувавши квоти за рівнем доходу на душу населення: дохід до 3000 грн – 20,7 % від вікової квоти; 3000–4400 грн – 34,3 %; понад 4400 грн – 45 % від вікової квоти. Далі квоти поділили на найменші частки за рівнем освіти: квота респондентів із вищою освітою/планують отримати вищу освіту – 47,1 %; без вищої освіти (школа, коледж, технікум)/не планують отримати вищу освіту – 52,9 %. Такий підхід до квотування за доходом на душу, віком та освітою зумовлений методологічними основами соціологічних опитувань і правовими нормами в Україні [20].

Для встановлення споживчої цінності та прийнятних цін у процесі анкетування жінкам запропонували відповіді на 4 запитання щодо кожного контрацептиву (за попередніми дослідженнями) [21,22]:

1. Яка ціна настільки низька, що постає питання про якість контрацептиву (вид)? – дуже дешево;
2. Яка ціна є прийнятною для купівлі контрацептиву (вид)? – дешево;
3. Яка ціна Вам здається високою, але Ви все одно розглядаєте питання щодо придбання контрацептиву (вид)? – дорого;
4. Починаючи з якого рівня ціни контрацептив (вид) здається Вам настільки дорогим, що Ви не плануєте його купувати? – дуже дорого.

Опитуванню передували інформаційний матеріал щодо основних засобів контрацепції, з яким жінки мали ознайомитися. Перелік контрацептивів сформувавши на підставі

чинних нормативно-законодавчих документів у сфері охорони жіночого здоров'я, він включав:

- а) гормональні лікарські контрацептиви: таблетки, ін'єкції, підшкірний імплантат, нашкірний пластр, вагінальне кільце, внутрішньоматкова терапевтична система;
- б) негормональні лікарські контрацептиви: супозиторії вагінальні, крем вагінальний, аерозоль вагінальний, губка з контрацептивом;

в) контрацептивні медичні вироби: спіраль внутрішньоматкова зі сріблом/міддю/золотом, чоловічий і жіночий презерватив, цервікальний ковпачок і діафрагма.

Можливі ціни на кожний із контрацептивів наводили у грошовому еквіваленті, починаючи від 0 % щодо максимальної ринкової ціни до 100 % із кроком 20 %. Такий ціновий поділ дає змогу використовувати результати під час цінового моделювання.

Основні розрахунки виконали в середовищі програмного забезпечення MS Excel 2010.

Ціни, отримані під час анкетування за пунктами 1–4, вважали випадковими величинами  $X_j, j = 1, 4$  з відповідними функціями розподілу  $F_j(x) = P(X_j < x)$ , а результати анкетування наводили як чотиривимірну вибірку ( $X_{q1}, X_{q2}, X_{q3}, X_{q4}$ ), де  $q = 1, 2, \dots, N$  (кількість жінок, яких опитували окремо, – незалежні вибіркові елементи) [10].

За кожним вибірковим вектором  $\{X_{1j}, X_{2j}, \dots, X_{Nj}\}$  випадкової величини  $X_j, j = 1, 4$ , побудували емпіричні кумулятивні функції розподілу:

$$*F_j(x) = \frac{1}{N} \sum_{q=1}^N I_{[0,x)}(X_{qj})$$

де  $I_{[0,x)}$  – індикаторна функція.

Для функцій розподілу ціни за 2, 3 запитаннями також побудували емпіричні кумулятивні функції виживання:

$$*S_j(x) = 1 - *F_j(x)$$

де  $*F_1$  – емпірична кумулятивна функція розподілу за запитанням 1;

$*F_2$  – емпірична кумулятивна функція розподілу за запитанням 2;

$*F_3$  – емпірична кумулятивна функція розподілу за запитанням 3;

$*F_4$  – емпірична кумулятивна функція розподілу за запитанням 4;

$*S_2$  – емпірична кумулятивна функція виживання за запитанням 2;

$*S_3$  – емпірична кумулятивна функція виживання за запитанням 3.

Результати розрахунку емпіричних функцій розподілу та виживання наведені як графік, на котрому абсциси точок перетину кривих інтерпретували на якісному рівні. Значення точки перетину функцій  $*S_3$  та  $*F_4$  – точка граничної дорожнечі (PME);  $*S_2$  і  $*F_1$  – точка граничної дешевизни (PMC).

Максимально прийнятним діапазоном цін вважали відрізок між точками граничної дешевизни та граничної дорожнечі, коли жінка не сумнівалася щодо якості та ціни, яку вона готова заплатити.

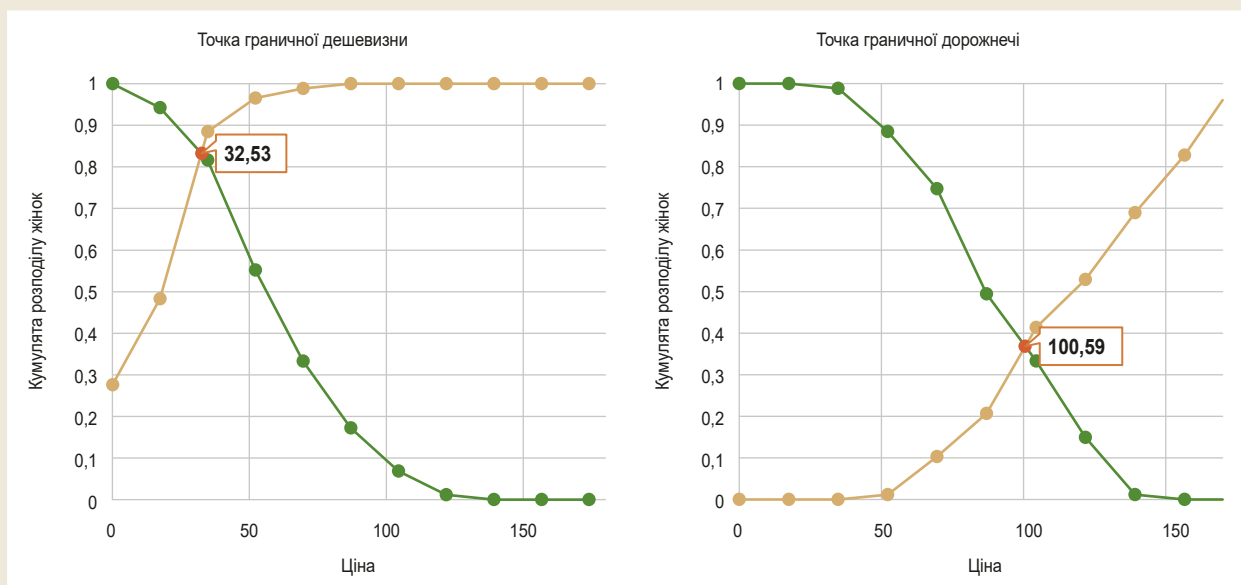


Рис. 1. Графіки кумулятивних функцій поділу жінок для ін'єкційного контрацептиву в дохідній квоті до 3000 грн.

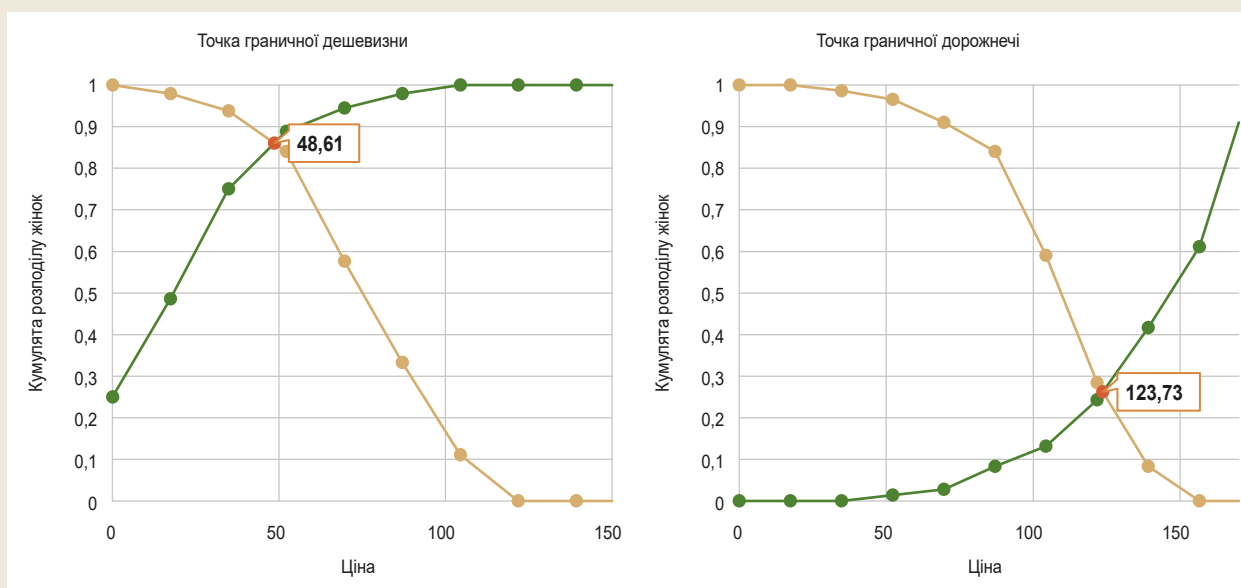


Рис. 2. Графіки кумулятивних функцій поділу жінок для ін'єкційного контрацептиву в дохідній квоті 3000–4400 грн.

## Результати

На першому етапі дослідження здійснили внутрішньогруповий аналіз цінової чутливості та дослідження максимально прийняттого діапазону цін готовності платити (за доходом на душу) за контрацептив.

Згідно з дохідним квотуванням для кожного контрацептиву (15 найменувань) побудували по 2 графіки кумулятивного розподілу респондентів, розрахували точкові значення граничної дешевизни (PMC) і дорожнечі (PME), які наведені на 90 графіках кумулятивного розподілу респондентів (на прикладі рис. 1, 2, 3) та в таблиці 1.

Встановили, що для жінки з рівнем доходу до 3000 грн психологічно прийнятний максимальний діапазон цін значно нижчий, ніж для жінки з доходом 3000–4400 грн

– приблизно від 1 % до 10 % по точці граничної дешевизни і до 15 % по точці граничної дорожнечі. Аналогічну залежність спостерігали між групами жінок із середнім і високим рівнем доходу. Загалом максимальний діапазон прийнятних цін для жінок із доходом до 3000 грн становив від 6 % (PMC) до 80 % (PME); для жінок із доходом 3000–4400 грн – від 9 % (PMC) до 82 % (PME); для жінок з доходом понад 4400 грн – від 10 % (PMC) до 84 % (PME).

Відзначимо, що найбільші значення точки граничної дорожнечі діапазону прийнятних цін визначені жінками з усіма рівнями доходу для аерозолі (84 %) та чоловічого презервативу (83 %). Найменшу суму жінки всіх рівнів доходу готові були віддати за цервікальний ковпачок (PME – 47 %).

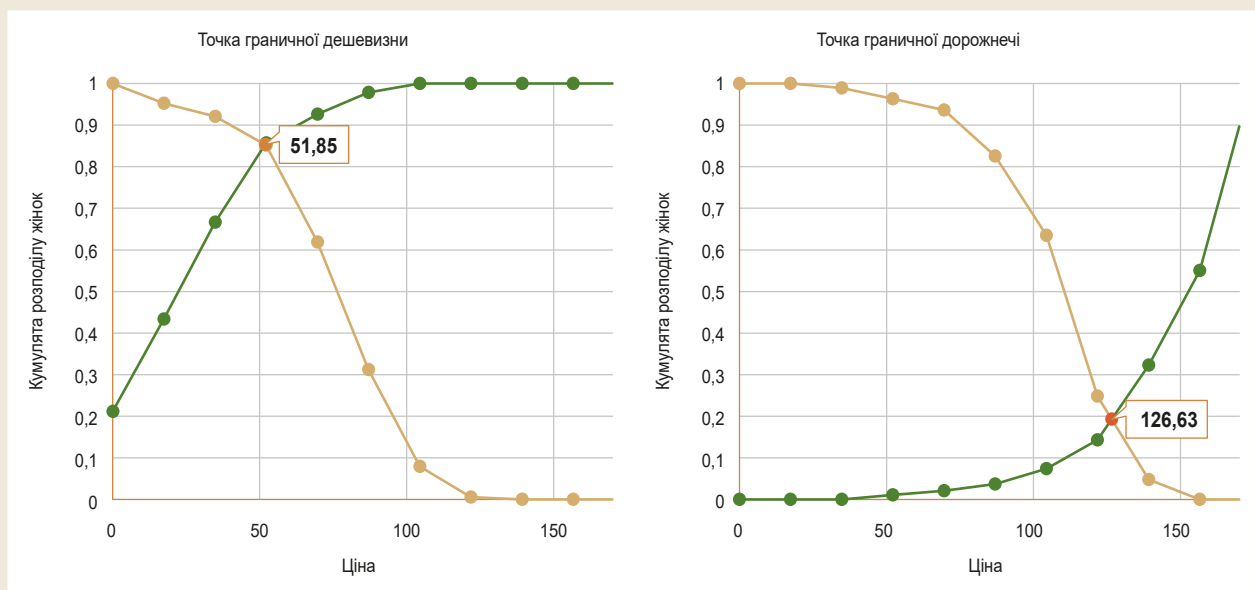


Рис. 3. Графіки кумулятивних функцій поділу жінок для ін'єкційного контрацептиву в дохідній квоті понад 4400 грн.

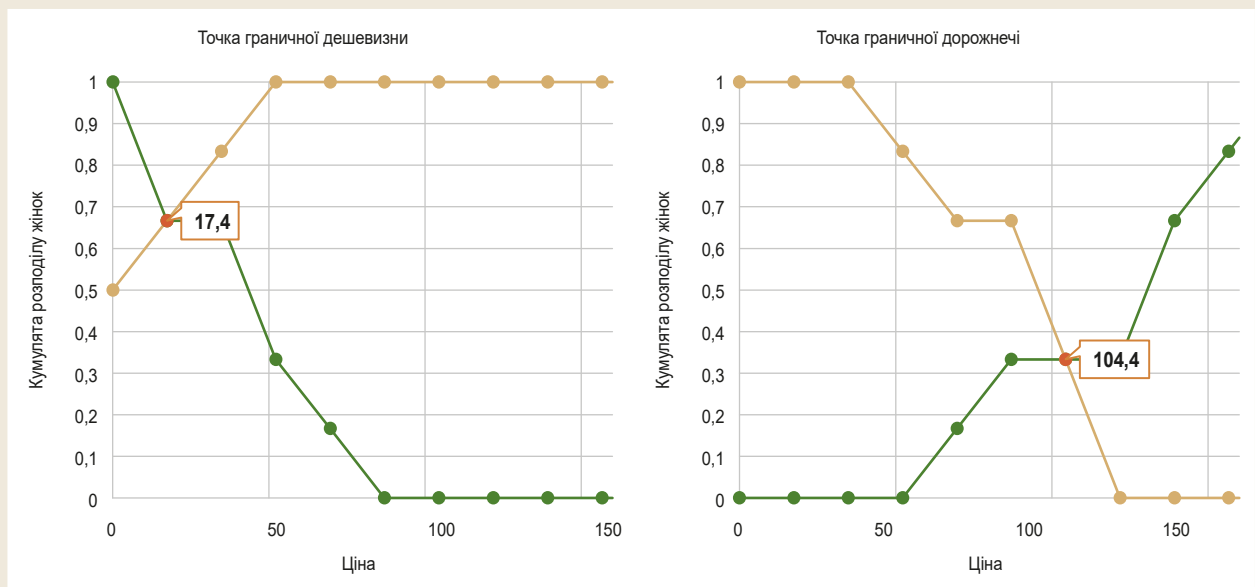


Рис. 4. Графіки кумулятивних функцій поділу жінок для ін'єкційного контрацептиву у віковій квоті 16–19 років і з доходом до 3000 грн.

У результаті внутрішньогрупового аналізу цінової чутливості та дослідження максимального діапазону цін готовності платити за контрацептиви за віковим квотуванням для кожного контрацептиву (15 найменувань) у кожній дохідній групі, поділеній за віковою квотою, побудували 2 графіки кумулятивного розподілу респондентів, розраховували точкові значення граничної дешевизни (РМС) і дорожнечі (РМЕ). Результати наведені на 630 графіках кумулятивного поділу респондентів (на прикладі рис. 4) та в таблиці 2.

Встановили, що тенденції до зміни цін максимальної дешевизни та дорожнечі на контрацептиви залежно від доходу жінки зберігаються і під час внутрішньогрупового аналізу у вікових групах. Так, у кожній віковій групі при

зростанні доходу РМЕ і РМС збільшуються від 3 % до 15 %. Розраховували середні значення РМЕ і РМС цін за віковими групами (табл. 2).

Тільки два контрацептиви – аерозоль і чоловічий презерватив – отримали найвищі значення цін максимальної дорожнечі в усіх вікових групах (80–82 %); це не суперечить внутрішньогруповому аналізу за дохідними квотами. Найнижчі точкові значення у вікових групах отримали вагінальна діафрагма й імплантат: РМС – 8–11 %, РМЕ – 44–50 %. Максимальні діапазони прийнятних цін для інших контрацептивів – 20–60 %. Для контрацептивів, що є на ринку України, в широкому асортименті ці діапазони цін вищі: крем вагінальний/мазь – 26–70 %, губка вагінальна – 13–55 %.



Таблиця 1. Значення максимального діапазону готовності платити за квотами по доходу на душу населення

Контрацептив	Ін'єкції		Пластир		Вагінальне кільце		Таблетки		ВТС		Середній відсоток, гормональні контрацептиви
Повна ціна, грн	174		491		545		973		2430		
	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	
	До 3000 грн										
	32,53–100,59	18,17–57,81	85,61–251,90	17,44–51,30	90,47–321,36	16,6–58,97	139,52–528,80	14,34–54,35	295,07–1225,56	12,14–50,43	12,63–43,03
	Від 3000 до 4400 грн										
	48,61–123,73	27,93–71,11	87,94–316,81	17,91–64,52	95,57–349,70	17,54–64,17	186,88–602,84	19,21–61,96	330,33–1383,23	13,59–56,92	17,99–61,49
	Понад 4400 грн										
	51,84–126,63	29,79–72,78	124,38–349,93	25,33–71,27	111,32–386,12	20,43–70,85	215,00–664,58	22,09–68,30	407,79–1510,69	16,78–62,17	21,03–67,23
Контрацептив	Імплантат		Аерозоль		Супп./таб. ваг.		Крем/мазь/гель ваг.		Губка		Середній відсоток, негормональні контрацептиви
Повна ціна, грн	4175		33		145		186		381		
	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	Діапазон, грн	%	
	До 3000 грн										
	384,37–1656,53	9,21–39,67	13,71–26,57	41,55–80,52	32,92–95,70	22,70–66,00	40,09–116,25	21,55–62,5	30,60–171,91	8,03–45,12	23,45–63,54
	Від 3000 до 4400 грн										
	491,48–2099,09	11,77–50,28	13,98–27,30	42,36–82,72	45,45–108,19	31,34–74,61	53,62–136,25	28,83–73,25	53,01–219,08	13,91–57,50	29,11–72,02
	Понад 4400 грн										
	492,05–2428,09	11,79–58,16	14,23–27,72	43,12–84,00	43,87–116,18	30,26–80,12	54,25–142,93	29,17–76,84	56,19–235,60	14,75–61,84	32,27–75,70
Контрацептив	Чоловічий презерватив		ВМК		Жіночий презерватив		Вагінальна діафрагма		Цервікальний ковпачок		Середній відсоток, медичні вироби
Повна ціна, грн	98		264		340		1940		1545		
	Діапазон, грн	Відсоток, %	Діапазон, грн	Відсоток, %	Діапазон, грн	Відсоток, %	Діапазон, грн	Відсоток, %	Діапазон, грн	Відсоток, %	
	До 3000 грн										
	42,84–76,25	43,71–77,81	46,62–151,8	17,66–57,5	51,59–176,8	15,17–52,00	125,53–776,00	6,47–40,0	163,77–762,20	10,6–49,33	18,72–55,33
	Від 3000 до 4400 грн										
	42,96–77,99	43,84–79,58	69,96–191,31	26,5–72,47	68,00–223,83	20,0–65,83	187,60–933,63	9,67–48,13	176,23–853,43	11,41–55,24	22,28–64,25
	Понад 4400 грн										
	45,30–81,38	46,22–83,04	78,05–210,17	29,56–79,61	77,27–232,56	22,73–68,4	192,27–905,33	9,91–46,67	212,91–890,95	13,78–57,67	24,44–67,07

Таблиця 2. Значення максимального діапазону готовності платити за віковими квотами

	45–49 років				40–44 роки			
	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%
Ін'єкції	28,29	16,26	94,18	54,13	59,49	34,19	129,7	74,52
Пластир	111,84	22,78	300,47	61,20	128,88	26,25	342,61	69,78
Вагінальне кільце	117,88	21,63	348,80	64,00	142,10	26,07	402,70	73,89
Таблетки	103,32	10,62	348,80	64,00	235,88	24,24	655,15	67,33
ВТС	379,82	15,63	1187,81	48,88	426,23	17,54	1349,77	55,55
Імплантат	529,13	12,67	2288,52	54,81	368,97	8,84	2075,90	49,72
Аерозоль	11,31	34,28	27,61	83,68	14,01	42,45	27,30	82,53
Свічки/ таб. ваг.	26,09	18,00	91,33	62,99	51,35	35,42	114,60	78,94
Крем/мазь/гель ваг.	47,54	25,56	128,21	68,93	62,70	33,71	143,20	76,89
Губка	45,51	11,94	209,55	55,00	34,25	8,99	205,40	54,05
Чоловічий презерватив	31,48	32,12	77,91	79,50	44,92	45,83	76,36	77,92
ВМК	62,77	23,78	180,57	68,40	88,44	33,50	200,22	75,84
Жіночий презерватив	93,5	27,50	228,57	67,23	67,06	19,72	202,58	59,58
Цервікальний ковпачок	369,55	23,92	1038,58	67,22	199,75	12,93	889,90	57,60
Вагінальна діафрагма	227,80	11,74	888,75	45,81	212,33	10,94	926,12	47,74
	35–39 років				30–34 роки			
	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%
Ін'єкції	47,98	27,57	110,77	63,66	45,92	26,39	119,87	68,89
Пластир	103,42	21,06	307,46	62,62	94,43	19,03	308,24	62,78
Вагінальне кільце	69,55	12,76	289,02	53,03	128,68	23,61	375,79	68,95
Таблетки	214,11	22,00	610,03	62,70	226,22	23,25	652,36	67,05
ВТС	356,50	14,67	1421,33	58,49	283,50	11,67	1289,33	53,06
Імплантат	507,96	12,17	2092,80	50,13	397,14	9,51	1909,51	44,74
Аерозоль	13,13	39,78	27,55	83,47	13,13	39,80	26,92	81,57
Свічки/ таб. ваг.	44,29	30,54	110,55	76,24	41,73	28,78	110,68	76,33
Крем/мазь/гель ваг.	38,07	20,47	123,60	66,45	52,16	28,04	132,68	71,34

## Продовження таблиці 2.

	35–39 років				30–34 роки			
	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%
Губка	43,73	11,48	200,72	52,68	43,57	11,44	196,46	51,56
Чоловічий презерватив	36,94	37,69	74,60	76,12	39,07	39,87	77,64	79,22
ВМК	45,11	17,09	164,88	62,45	65,23	24,71	194,48	73,67
Жіночий презерватив	67,83	19,95	190,98	56,17	67,50	19,85	210,07	61,79
Цервікальний ковпачок	209,50	13,56	812,12	52,56	118,02	7,64	656,63	42,50
Вагінальна діафрагма	154,28	7,95	750,33	38,68	156,14	8,05	1013,11	52,22
	25–29 років				20–24 роки			
	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%
Ін'єкції	50,14	28,81	126,79	72,87	45,16	25,95	112,33	64,56
Пластир	86,20	17,56	285,87	58,22	57,83	11,78	272,48	55,56
Вагінальне кільце	100,44	18,43	357,73	65,64	80,45	14,76	290,67	53,33
Таблетки	198,65	20,42	625,96	64,33	162,98	16,75	542,25	55,73
ВТС	296,40	12,20	1382,40	56,89	279,45	11,50	1366,20	56,22
Імплантат	454,03	10,87	2254,00	53,99	414,61	9,93	1616,99	38,73
Аерозоль	16,54	50,11	28,06	85,03	15,83	47,97	27,11	82,16
Свічки/ таб. ваг.	44,38	30,60	106,15	73,21	42,94	29,61	67,81	46,77
Крем/мазь/гель ваг.	48,57	26,11	133,30	71,67	51,69	27,79	131,41	70,65
Губка	51,96	13,64	250,83	65,83	69,14	18,15	199,53	52,37
Чоловічий презерватив	46,25	47,20	80,88	82,53	49,77	50,79	80,63	82,28
ВМК	61,74	23,39	184,73	69,97	77,15	29,22	177,76	67,33
Жіночий презерватив	48,35	14,22	209,38	61,58	58,56	17,22	213,44	62,78
Цервікальний ковпачок	128,53	8,32	878,73	56,88	173,23	11,21	715,85	46,33
Вагінальна діафрагма	146,58	7,56	943,06	48,61	107,24	5,53	739,72	38,13

## Продовження таблиці 2.

	16–19 років				Середній відсоток
	Середнє значення мін. ціни, грн	%	Середнє значення макс. ціни, грн	%	
Ін'єкції	31,65	18,17	114,07	65,56	25,33–66,36
Пластир	100,93	58,00	319,74	65,12	25,20–62,18
Вагінальне кільце	59,04	10,83	298,24	54,72	18,30–61,93
Таблетки	132,44	13,61	562,18	57,78	18,70–62,70
ВТС	418,50	17,22	1565,04	64,40	14,34–55,21
Імплантат	661,10	15,83	2544,76	60,95	11,40–50,44
Аерозоль	14,67	44,44	26,08	79,02	42,68–82,49
Свічки/ таб. ваг.	40,60	28,00	103,68	71,50	28,71–69,43
Крем/мазь/гель ваг.	49,88	26,82	130,29	70,05	26,93–70,85
Губка	63,71	16,72	226,06	59,33	13,91–55,83
Чоловічий презерватив	53,77	54,86	86,08	87,83	42,62–80,77
ВМК	66,88	25,33	172,04	65,17	25,29–68,98
Жіночий презерватив	73,83	21,71	172,04	50,60	20,02–59,96
Цервікальний ковпачок	151,93	9,83	772,50	50,00	12,49–53,30
Вагінальна діафрагма	149,09	7,69	794,01	40,93	8,49–44,59



## Обговорення

Маркетингове дослідження зі встановлення цінової чутливості та максимальних діапазонів прийнятних цін на протизаплідні засоби методом PSM, що здійснили, є першим у вітчизняній науковій фармацевтичній площині. Тому порівняти результати можна тільки з подібними дослідженнями, що здійснені в інших країнах.

Усі попередні дослідження цін на контрацептиви передбачали вивчення окремих видів контрацепції методами логістичної та лінійної регресії [23]. У цих дослідженнях встановлювали дискретні значення прийнятних цін, що суттєво звужує діапазон цінового регулювання для системи забезпечення протизаплідними засобами.

Вивчаючи взаємозв'язок цін максимальної дорожнечі та дешевизни з цінністю та корисністю контрацептивів для споживача, встановили: протизаплідні засоби, що за результатами спільного аналізу отримали найвищі коефіцієнти привабливості, мають також високі показники точок граничної дорожнечі; контрацептиви з найнижчими показниками точок максимальної дешевизни (позначені курсивом у таблиці 2), на думку споживачів, найменш корисні.

Маркетингове дослідження підтвердило також спостереження щодо впливу соціально-економічних факторів на цінову чутливість [24]. Вік і дохід впливають на цінову чутливість: зі збільшенням доходу порогові значення максимальної дешевизни і дорожнечі збільшуються, а при переході до наступної вікової групи ці показники знижуються.

## Висновки

Дослідження з використанням методу PSM дали можливість:

1. Визначити процес психологічного сприйняття українськими жінками (споживачами) ціни контрацептиву; розрахувати діапазон цінової складової споживчої цінності протизаплідного засобу за віком і доходом на душу населення;

2. Визначити лідерів серед контрацептивів, що мають найбільшу споживчу цінність для респондентів: аерозоль і чоловічий презерватив. Це можна пояснити їхньою ціною доступністю та поширеністю на сучасному фармацевтичному ринку;

3. Апробувати метод ван Вестендорпа на прикладі маркетингових досліджень протизаплідних засобів, що дає підстави рекомендувати цю методику для широкого практичного застосування.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати роботи дали можливість спланувати наступні дослідження зі встановлення провідних факторів впливу на цінову чутливість.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

## Відомості про автора:

Маганова Т. В., аспірантка каф. управління та економіки фармацевції, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7008-3102](https://orcid.org/0000-0001-7008-3102)

## Information about author:

Mahanova T. V., Postgraduate student of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторе:

Маганова Т. В., аспирант каф. управления и экономики фармацевции, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] International alliance of Patients' organizations. *Declaration on Patient-Centred Healthcare*. URL : <https://www.iapo.org.uk/sites/default/files/files/IAP0%20Declaration%20on%20Patient-Centred%20Healthcare%20Poster.pdf>
- [2] Kotler P., Keller K. L. *Marketing Management*. 14th ed. Pearson Education, 2012. 812 p.
- [3] Marshall A. *Principles of Economics*. 8th ed. London : Macmillan and Co., 1920. URL : <https://oll.libertyfund.org/title/marshall-principles-of-economics-8th-ed#preview>
- [4] Малхотра Нареш К. *Маркетинговые исследования*. Практическое руководство. 3-е изд. Пер. з англ. Москва : Издательский дом «Вильямс», 2002.
- [5] Жудро М. М. Методический инструментарий формирования цен. *Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. 2016. № 3. С. 11-15.
- [6] Гладких И. В., Светланава Ж. В. Ценовые исследования в маркетинге. *Вестник СПбГУ*. 2004. Вып. 4. С. 57-78.
- [7] Garner S., Rintoul A., Hill S. R. Value-Based Pricing: L'Enfant Terrible?. *PharmacoEconomics*. 2018. Vol. 36, Iss. 1. P. 5-6. <https://doi.org/10.1007/s40273-017-0567-4>
- [8] Jedidi K., Zhang Z. J. Augmenting Conjoint Analysis to Estimate Consumer Reservation Price. *Management Science*. 2002. Vol. 48, Iss. 10. P. 1350-1368. <http://www.jstor.org/stable/822641>
- [9] Ahlheim M., Buchholz W. *WTP or WTA-Is that the Question? Reflections on the Difference between "Willingness To Pay" and "Willingness to Accept" by Michael Ahlheim*. *Zeitschrift für Umweltpolitik und Umweltrecht*. 2000. No. 2. P. 253-271.
- [10] Lipovetsky, S. (2006). Van westendorp price sensitivity in statistical modeling. *International Journal of Operations and Quantitative Management*, 12(2), 141-156.
- [11] Дмитриев Ю. Г., Зенкова Ж. Н., Зенков А. Г. Статистические свойства оценок метода измерения ценовой чувствительности PSM. *Вестник Томского государственного университета*. 2019. № 47. С. 30-40. <https://doi.org/10.17223/19988605/47/4>
- [12] Salamandic E., Alijosiene S., Gudonaviene R. Price Sensitivity Measurement Depending on Brand Awareness: A Case of Ziede Brand. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2014. Vol. 156. P. 473-478. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2014.11.224>
- [13] Егорова Л. Г. Методы объявленных предпочтений для выявления предпочтений людей в отношении общественных благ и факторов среды обитания: описание методологии и примеры использования. WP7/2018/03. Москва : Изд. дом Высшей школы экономики, 2018. 64 с.
- [14] Голованова М. А., Мельников С. М., Устинова Г. М. Формування попиту на послуги вищої освіти на основі дослідження цін з використанням методу Ван Вестендорпа. *Становлення ринкової економіки*: спец. вип. Маркетинг: теорія і практика. КНЕУ, 2009. С. 367-377.
- [15] Женщины и здоровье // *World Health Organization*. URL : <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/women-s-health>
- [16] Medical Eligibility Criteria For Contraceptive Use / World Health Organization. 5th ed. Department of Reproductive Health, 2015. 121 p. URL : <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549158>
- [17] Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги з питань планування сім'ї : Наказ МОЗ України від 21.01.2014 № 59. Дата оновлення 28.09.2017. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0059282-14#Text>

- [18] Журко Е. С., Зенкова Ж. Н. Метод ценообразования PSM для случая цензурированных выборок малого объема. *Математическое и программное обеспечение информационных, технических и экономических систем* : мат. 4-ой междунар. молодеж. науч. конф. Томск, 20-21 мая 2016 г. Томск, 2016. С. 47-51. URL: <http://vital.lib.tsu.ru/vital/access/manager/Repository/vtls:000565772> (дата звернення: 2021.09.06).
- [19] Добренков В. И., Кравченко А. И. *Фундаментальная социология*. Т. 2 : Эмпирическая и прикладная социология. Москва : Инфра-М, 2004. 985 с.
- [20] Служба статистики України. URL: <http://www.ukrstat.gov.ua/>
- [21] Маганова Т. В., Ткаченко Н. О. Аналіз ринку протизаплідних лікарських засобів у контексті фармацевтичної безпеки. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, 2020. Т. 13, № 1. С. 128-136. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198187>
- [22] Mahanova T. V., Tkachenko N. O. The Analysis of the Ukrainian Market of Contraceptive Medical Devices in the Context of Pharmaceutical Safety. *Рецепт*. 2020. № 2-3. С. 223-234. <https://doi.org/10.34883/PI.2020.2.2.030>
- [23] Harvey P. D. The impact of condom prices on sales in social marketing programs. *Studies in family planning*. 1994. Vol. 25, Iss. 1. P. 52-58.
- [24] Willingness to pay and benefit-cost analysis of modern contraceptives in Nigeria / O. Onwujekwe, C. Ogbonna, O. Ibe, B. Uzochukwu. *International journal of gynaecology and obstetrics*. 2013. Vol. 122, Iss. 2. P. 94-98. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.03.024>
- [14] Holovanova M. A., Melnikov S. M., & Ustinova H. M. (2009). Formuvannya popytu na posluhy vyshchoi osvity na osnovi doslidzhennia tsin z vykorystanniam metodu Van Vestendorpa [Formation of demand for education higher services on the basis of price research with the use of the Van Westendorp method]. *Stanovlennia rynkovoï ekonomiky*, (special issue Marketing: theory and practice), 367-377. [in Ukrainian].
- [15] World Health Organization. (2018, September 25). *Zhenshchiny i zdorov'e* [Women and health]. Retrieved from <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/women-s-health>
- [16] World Health Organization. (2015). *Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use*, (5th ed.). Department of Reproductive Health. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549158>
- [17] Ministry of Health of Ukraine. (2014, January 21). *Pro zatverdzhennia ta vprovadzhenia medyko-tehnolohichnykh dokumentiv zi standartyatsii medychnoi dopomohy z pytan planuvanni simi* [On confirmation and implementation of medical-technological documents on standardization of medical care on family planning (No. 59)]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0059282-14#Text>
- [18] Zhurko, E. S., & Zenkova, Zh. N. (2016). Metod tsenoobrazovaniya PSM dlya sluchaya tsenzurovaniykh vyborok malogo ob'yema [PSM pricing method for small-sized censored samples]. *Matematicheskoye i programnoye obespecheniye informatsionnykh. tekhnicheskikh i ekonomicheskikh sistem*. Proceedings of the 4th correspondence scientific-practical conference (pp. 47-51). Tomsk [In Russian].
- [19] Dobrenkov, V. I., & Kravchenko, A. I. (2006). *Fundamental'naya sotsiologiya* [Fundamental Sociology], (Vol. 2. Empirical and Applied Sociology). Infra-M [in Russian].
- [20] *Derzhavna sluzhba statystyky Ukrainy* [State Statistics Service of Ukraine]. <http://www.ukrstat.gov.ua/>
- [21] Mahanova, T. V., & Tkachenko, N. O. (2020). Analiz rynku kontratseptyviv u konteksti farmatsevtichnoi bezpeky. [Analysis of the market of contraceptives in the context of pharmaceutical safety]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 13(1), 128-136. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198187>
- [22] Mahanova, T. V., & Tkachenko, N. O. (2020). The Analysis of the Ukrainian Market of Contraceptive Medical Devices in the Context of Pharmaceutical Safety. *Retsept*, (2-3), 223-234. [in Russian]. <https://doi.org/10.34883/PI.2020.2.2.030>
- [23] Harvey, P. D. (1994). The impact of condom prices on sales in social marketing programs. *Studies in family planning*, 25(1), 52-58.
- [24] Onwujekwe, O., Ogbonna, C., Ibe, O., & Uzochukwu, B. (2013). Willingness to pay and benefit-cost analysis of modern contraceptives in Nigeria. *International journal of gynaecology and obstetrics*, 122(2), 94-98. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2013.03.024>

## References

- [1] International alliance of Patients` organizations. (2006). *Declaration on Patient-Centred Healthcare*. Retrieved from <https://www.iapo.org.uk/sites/default/files/files/IAP0%20Declaration%20on%20Patient-Centred%20Healthcare%20Poster.pdf>
- [2] Kotler, F., & Keller, K. L. (2014). *Marketing management* (14nd ed., rev.). Pearson Education.
- [3] Marshall, A. (1920). *Principles of Economics*, (8th ed.). London: Macmillan and Co. <https://oll.libertyfund.org/title/marshall-principles-of-economics-8th-ed#preview>
- [4] Malhotra, N. K. (2002). *Marketingovye issledovaniya* [Marketing Research. Practical guide], (3rd ed.). Izdatel'skii dom "Vil'yame". [in Russian].
- [5] Zhudro, M. M. (2016). Metodicheskie instrumentarii firmirovaniya tsen. [Methodology and tools for determining prices in the enterprise]. *Vestnik Belorusskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*, (3), 11-15. [in Russian].
- [6] Gladkikh, I. V., & Svetlanova, Zh. V. (2004). Tsenovye issledovaniya v marketinge [Research price in marketing]. *Vestnik SPbGU*, 4, 57-78. [in Russian].
- [7] Garner, S., Rintoul, A., & Hill, S. R. (2018). Value-Based Pricing: L'Enfant Terrible?. *PharmacoEconomics*, 36(1), 5-6. <https://doi.org/10.1007/s40273-017-0567-4>
- [8] Jedidi, K., & Zhang, Z. J. (2002). Augmenting Conjoint Analysis to Estimate Consumer Reservation Price. *Management Science*, 48(10), 1350-1368. <http://www.jstor.org/stable/822641>
- [9] Ahlheim, M., & Buchholz, W. (2000). *WTP or WTA-Is that the Question? Reflections on the Difference between "Willingness To Pay" and "Willingness to Accept" by Michael Ahlheim*. *Zeitschrift für Umwelt-politik und Umweltrecht*. 2000. No. 2. P. 253-271.
- [10] Lipovetsky, S. (2006). Van westendorp price sensitivity in statistical modeling. *International Journal of Operations and Quantitative Management*, 12(2), 141-156.
- [11] Dmitriev, Y. G., Zenkova, Zh. N., & Zenkov, A. G. (2019). Statisticheskiye svoystva otsenok metoda izmereniya tsenovoy chuvstvitel'nosti psm [Statistical properties of price sensitivity meter results]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*, 47, 30-40. [in Russian]. <https://doi.org/10.17223/19988605/47/4>
- [12] Salamandic, E., Alijosiene, S., & Gudonaviene, R. (2014). Price Sensitivity Measurement Depending on Brand Awareness: A Case of Ziede Brand. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*, 156, 473-478. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2014.11.224>
- [13] Egorova, L. G. (2018). *Metody predpochtenii dlya vyyavleniya predpochtenii lyudei v otnoshenii obshchestvennykh blag i faktorov sredei obitaniya: opisaniye metodologii i primery ispol'zovaniya* [Declared preference methods for identifying people's preferences for public goods and environmental factors: a description of the methodology and examples of use. WP7/2018/03]. House of the Higher School of Economics [in Russian].



## Патоморфологічні зміни капілярів кори головного мозку при цукровому діабеті 2 типу

В. О. Туманський<sup>1</sup>, Ю. М. Авраменко<sup>2</sup>

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – визначити мікроскопічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні, морфометричні параметри капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу порівняно з групою умовного контролю та групою померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію.

**Матеріали та методи.** Здійснили мікроскопічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні та морфометричні дослідження капілярів кори головного мозку в 3 групах: I – 20 померлих хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу; II (умовного контролю, УК) – 20 померлих пацієнтів без клініко-морфологічних ознак цукрового діабету та церебральної судинної патології; III – 20 померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію (ДІЕП).

**Результати.** Встановлено, що при ЦД 2 типу капіляри кори головного мозку втрачають перицити через їхній апоптоз: кількість перицитів у кортикальних капілярах у групі ЦД 2 типу статистично вірогідно менша на 57,14 % порівняно з групою УК та на 50,00 % менша щодо групи ДІЕП; рівень експресії каспази-3 у кортикальних мікросудинах у групі ЦД 2 типу достовірно вищий на 230,85 % порівняно з групою УК і на 81,67 % вищий, ніж у групі ДІЕП. За даними електронної мікроскопії, при ЦД 2 типу в капілярах кори головного мозку спостерігали апоптоз перицитів і поодиноких ендотеліальних клітин, а також істотні розширення базальних мембран із накопиченням у них електроннощільного аморфного матеріалу та колагенових фібрил. За результатами морфометрії, кортикальні капіляри в групі ЦД 2 типу мали вірогідно більший на 4,90 % зовнішній діаметр, менший на 9,78 % внутрішній діаметр, на 66,62 % потовщені стінки (порівняно з групою УК) через накопичення ШИК+ компонентів плазми крові та фіброз, підтверджений більшою на 22,96 % площею експресії колагену IV типу в стінках мікросудин.

**Висновки.** Патоморфологічні зміни мікросудин, що визначили в померлих хворих на цукровий діабет 2 типу, – ознаки діабетичної церебральної мікроангіопатії.

**Ключові слова:** цукровий діабет, головний мозок, капіляри, перицити.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 354–362**

### Pathomorphological changes of capillaries in the cerebral cortex in type 2 diabetes mellitus

V. O. Tumanskyi, Yu. M. Avramenko

**The aim** of the study was to determine microscopic, immunohistochemical, electron microscopic, morphometric parameters of capillaries in the cerebral cortex in deceased patients with type 2 diabetes mellitus (DM) in comparison with the conditional control group and the group of deceased patients with dyscirculatory ischemic encephalopathy.

**Materials and methods.** Microscopic, immunohistochemical, electron microscopic and morphometric studies of the cerebral cortex capillaries were performed in 3 groups: group I – 20 deceased patients with type 2 DM, group II conditional control (CC) – 20 deceased patients without clinical morphological signs of DM and cerebrovascular pathology, group III – 20 patients with dyscirculatory ischemic encephalopathy (DIEP).

**Results.** It was found that in type 2 DM, the capillaries in the cerebral cortex lose pericytes due to their apoptosis: the number of pericytes in the cortical capillaries in type 2 DM was statistically significantly lower by 57.14 % compared to CC group and 50.00 % lower compared to DIEP group, the level of caspase-3 expression in the cortical microvessels in type 2 DM was significantly higher by 230.85 % compared with CC group and 81.67 % higher than in DIEP group. According to electron microscopy in type 2 DM, apoptosis of pericytes and single endothelial cells in the cerebral cortex capillaries was determined as well as significant expansion of basement membranes with the accumulation of electron-dense amorphous material and collagen fibrils. According to the results of morphometry, the outer diameter of the cortical capillaries in type 2 DM group was 4.90 % significantly larger, the inner diameter was 9.78 % smaller and the walls were 66.62 % thicker (compared with CC group) due to the accumulation of PAS-positive substances of blood serum and fibrosis, confirmed by 22.96 % greater area of type IV collagen expression in the microvessel walls.

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/244360>

UDC 616.831.3:616.16-092.18]-06:616.379-008.64

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.244360](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.244360)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 354–362

**Key words:** diabetes mellitus, brain, capillaries, pericytes.

\*E-mail: [juliya\\_avramenko@ukr.net](mailto:juliya_avramenko@ukr.net)

Received: 09.09.2021 // Revised: 22.09.2021 // Accepted: 27.09.2021



**Conclusions.** The pathomorphological changes of microvessels identified in deceased patients with type 2 diabetes mellitus are signs of diabetic cerebral microangiopathy.

**Key words:** diabetes mellitus, brain, capillaries, pericytes.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 354–362**

## Патоморфологічні зміни капілярів кори головного мозку при сахарному діабеті 2 типу

В. А. Туманський, Ю. Н. Авраменко

**Цель работы** – визначити мікроскопічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні, морфометричні параметри капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу порівняно з групою умовного контролю та групою померлих хворих з дисциркуляторно-ішемічною енцефалопатією.

**Матеріали і методи.** Проведені мікроскопічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні та морфометричні дослідження капілярів кори головного мозку в 3 групах: I – 20 померлих хворих на цукровий діабет (СД) 2 типу; II (умовного контролю, УК) – 20 померлих пацієнтів без клініко-морфологічних ознак цукрового діабету та церебральної судинної патології; III – 20 померлих хворих з дисциркуляторно-ішемічною енцефалопатією (ДИЭП).

**Результати.** Встановлено, що при СД 2 типу капіляри кори головного мозку втрачають періцити із-за їх апоптозу: кількість періцитів в кортикальних капілярах в групі СД 2 типу статистично достовірно менше на 57,14 % порівняно з групою УК та на 50,00 % менше порівняно з групою ДИЭП; рівень експресії каспази-3 в кортикальних мікрососудах в групі СД 2 типу достовірно вище на 230,85 % порівняно з групою УК та на 81,67 % вище, ніж в групі ДИЭП. По даним електронної мікроскопії, при СД 2 типу в капілярах кори головного мозку спостерігали апоптоз періцитів та одиничних ендотеліальних клітин, а також значні розширення базальних мембран з накопиченням в них електронноплотного аморфного матеріалу та колагенових фібрил. По результатам морфометрії, кортикальні капіляри в групі СД 2 типу мали достовірно більший на 4,90 % зовнішній діаметр, менший на 9,78 % внутрішній діаметр та на 66,62 % утолщені стінки (порівняно з групою УК) із-за накопичення ШИК+ компонентів плазми крові та фіброзу, підтверджений збільшеною на 22,96 % площею експресії колагену IV типу в стінках мікрососудів.

**Висновки.** Патоморфологічні зміни мікрососудів, встановлені у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу, – ознаки діабетичної церебральної мікроангіопатії.

**Ключові слова:** цукровий діабет, головний мозок, капіляри, періцити.

**Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 354–362**

Цукровий діабет за поширеністю посідає 3 місце після серцево-судинних захворювань і злоякісних новоутворень, його найнебезпечніші наслідки – системні судинні ускладнення [1]. Здебільшого діагностують цукровий діабет 2 типу, який є наслідком неефективного використання організмом інсуліну та зумовлений передусім надмірною масою тіла та гіподинамією [2]. Нейротоксичність глюкози при неконтрольованій гіперглікемії спричиняє клітинну дисфункцію через активацію процесів вільнорадикального окиснення та неферментативного глікозилювання білків, активацію поліолового шляху метаболізму глюкози, що призводить до ендотеліальної дисфункції, гемореологічних порушень із розвитком діабетичної ангіопатії [3]. Особливої уваги потребує ураження церебрального мікроциркуляторного русла, оскільки воно є основною системою транспортування та розподілу кисню та поживних речовин у головному мозку. Відомо, що ендотеліальні клітини, періцити і базальні мембрани церебрального мікроциркуляторного русла, а також астроцити, нейрони, олігодендроцити й мікрогліоцити разом утворюють так звану нейроваскулярну одиницю [4].

Вважають, що ендотеліальні клітини церебральних мікрососудів, періцити та астроцити – головні мішені гіперглікемічного пошкодження, оскільки ці клітини не можуть знижувати швидкість транспорту глюкози при підвищенні її концентрації в крові, і це зумовлює високі

внутрішньоклітинні концентрації глюкози та дисфункцію цих клітин через різні біохімічні шляхи, ініційовані гіперпродукцією активних форм кисню мітохондріями. Це призводить до підвищеної проникності ендотелію мікрососудів, адгезії лейкоцитів, більшої активності прокоагулянтів і зниження доступності оксиду азоту [5]. Порушення функцій дрібних судин суттєво впливає, а іноді навіть має вирішальне значення в розвитку церебральних ускладнень ЦД 2 типу. Однак докази патології та дисфункції церебральної мікроциркуляції, що продемонстровані на експериментальних моделях діабету на гризунах або моделях хронічної гіперглікемії *in vitro* [6,7], суперечливі.

### Мета роботи

Визначити мікроскопічні, імуногістохімічні, електронномікроскопічні, морфометричні параметри капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу порівняно з групою умовного контролю та групою померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію.

### Матеріали і методи дослідження

Вивчили 60 секційних випадків, які поділили на 3 групи за результатами анамнестичного та патологоанатомічного аналізу: 1 група – 20 померлих хворих на цукровий



діабет (ЦД) 2 типу без клінічно підтвердженої діабетичної енцефалопатії та артеріальної гіпертензії, середній вік – 71,47 року; 2 група (умовного контролю, УК) – 20 померлих пацієнтів без клініко-морфологічних ознак цукрового діабету та церебральної судинної патології, середній вік – 66,10 року; 3 група – 20 померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію (ДІЕП) з виразним атеросклеротичним стенозом понад 75 % просвіту внутрішньочерепних магістральних артерій головного мозку, середній вік – 71,23 року.

Дослідили фронтальні смужки кори лівої тім'яної ділянки мозку завтовшки 5 мм, які фіксували в 10 % забуференому формаліні та заливали в парафін. Морфологічні й комп'ютерно-морфометричні характеристики кортикальних капілярів визначали під час мікроскопії мікропрепаратів, забарвлених гематоксилином та еозинном, проводили ШИК-реакцію. В мікроскопі Score.A1 «Carl Zeiss» (ФРН) з камерою Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (ФРН), з'єднаною з персональним комп'ютером, що оснащений програмою цифрового аналізу Progres Gryphax 1.1.4.2 (Jenoptik Optical System, ФРН), здійснили комп'ютерну морфометрію. Визначали зовнішній (D1) і внутрішній (D2) діаметри капілярів; товщину стінки капілярів (Т) розраховували за формулою:  $T = (D1 - D2) / 2$ , де D1 – зовнішній діаметр, мкм; D2 – внутрішній діаметр, мкм [8].

Імуногістохімічні (ІГХ) дослідження виконали за стандартною методикою, використовуючи моноклональні антитіла Мо а-Hu Collagen IV, Clone CIV 22 («DAKO», Данія), Мо а-Hu Caspase 3 (CPP32) Ab-3, Clone 3CSP03 («ThermoScientific», США) та систему детекції DAKO EnVision+ System з діамінобензидином («DAKO», США). Зрізи дозабарвлювали гематоксилином Маєра та заключали в канадський бальзам. Результати ІГХ-реакцій оцінювали на мікроскопі Score. A1 «Carl Zeiss» з камерою Progres Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (ФРН) у 5 стандартизованих полях зору (при збільшенні  $\times 200$  (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ )). Отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів, площу експресії маркерів оцінювали в мкм<sup>2</sup> за допомогою програми ВідеоТест – Морфологія 5.2.0.158 (ООО ВідеоТест, РФ). Далі обчислювали відносну площу експресії маркера шляхом поділу площі імунопозитивного забарвлення на загальну площу мікрофотографії, результат множили на 100 %, отримували  $S_{\text{відн. експресії}}$ , %.

Кількісну оцінку рівня апоптозу за експресією каспази-3 у клітинах мікросудин кори головного мозку визначали шляхом обчислення відношення кількості каспази-3-імунопозитивних клітин судин до загальної кількості клітин у судинах у 5 стандартизованих полях зору мікроскопа Score.A1 «Carl Zeiss» (ФРН). Кількість перичитів у капілярах підраховували в імуногістохімічних мікропрепаратах кори головного мозку, забарвлених антитілами до колагену IV типу (у кожному випадку – в 5 полях стандартизованого поля зору мікроскопа при збільшенні  $\times 200$  (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 20$ )).

Для електронномікроскопічного дослідження брали дрібні шматочки кори головного мозку у 3 померлих хворих на ЦД 2 типу та 2 померлих хворих на ДІЕП через 4–6 годин після констатації біологічної смерті. Після подрібнення шматочки фіксували в 2,5 % глутаральдегіді на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) 2 години за температури +4 °С. Після відмивання фіксатора у фосфатному буфері матеріал контрастували при +4 °С впродовж 2 годин в 1 % розчині OsO<sub>4</sub> на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,3), зневоднювали в спиртах висхідної концентрації, контрастували у 2 % розчині уранілацетату на 70 % спирті; після зневоднення у 80 %, 95 %, 100 % спирті та ацетоні заливали в епон. Ультратонкі зрізи (45–60 нм) виготовляли на ультрамікроскопі Reichert Om43 (Австрія), контрастували спиртовим розчином уранілацетату (10 хвилин при 56 °С) і цитратом свинцю за E. Reynolds і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Україна) при напрузі прискорення 75 кВ.

Статистично результати опрацювали за допомогою персонального комп'ютера, використавши статистичний пакет Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J) для аналізу отриманих даних. Гіпотезу про нормальність розподілу показників перевірили, використавши критерій Шапіро–Вілка. Результати наведені як медіана та міжквартильний розмах Me (Q1; Q3); дані 2 груп порівнювали за допомогою непараметричного U-критерію Манна–Вітні для незалежних вибірок.

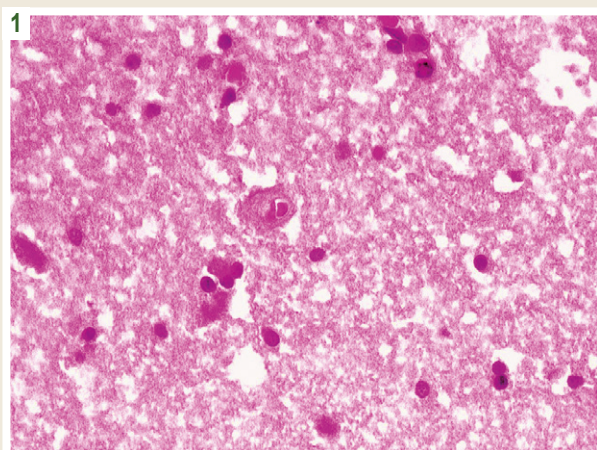
## Результати

Під час мікроскопічного й гістохімічного дослідження капіляри кори головного мозку померлих хворих на ЦД 2 типу мали потовщену, гомогенну стінку з вогнищевим накопиченням ШИК-позитивних речовин плазми крові, а також вузький внутрішній діаметр (рис. 1). Привертала увагу знижена кількість перичитів у потовщених капілярних стінках. Ендотелій капілярів мав великі ядра з розрідженим, світлим хроматином.

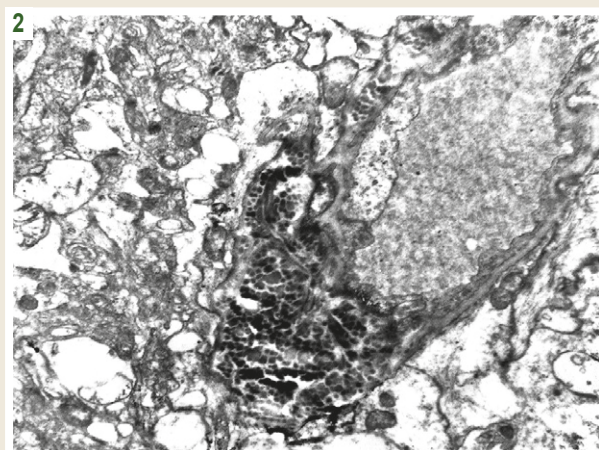
Під час електронної мікроскопії в капілярах кори головного мозку померлих хворих на ЦД 2 типу спостерігали апоптоз окремих ендотеліальних клітин і поширений апоптоз перичитів (рис. 2). Визначили також чималі локальні 3–6-разові розширення базальної мембрани капілярів з наявністю множинних колагенових волокон і включень гомогенного електроннощільного матеріалу (рис. 3), а також помірний або значний набряк перикапілярних відростків астроцитів.

В ІГХ мікропрепаратах кори головного мозку, забарвлених антитілами до колагену IV типу, який чітко візуалізує базальну мембрану капілярів, перичити визначали як клітини, що оточені з усіх боків базальною мембраною (рис. 4).

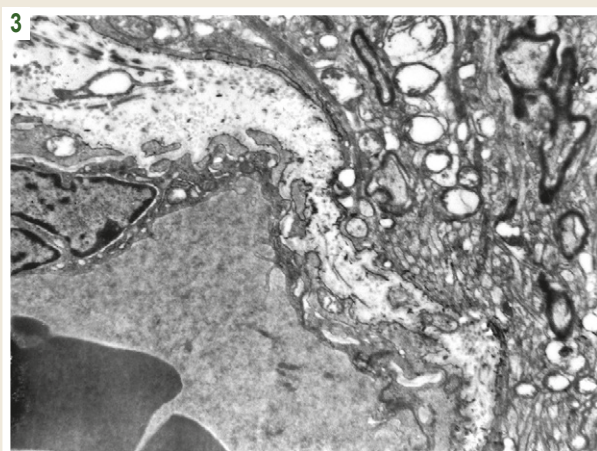
Під час підрахунків встановили, що кількість перичитів у капілярах кори головного мозку померлих хворих на цукровий діабет 2 типу – на рівні 3,00 (2,00; 4,00); у групі померлих умовного контролю – 7,00 (6,00; 9,00), а в групі померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну



**Рис. 1.** Значно потовщена стінка та звужений просвіт капіляра кори головного мозку в померлого хворого на цукровий діабет 2 типу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.:  $\times 1000$ .



**Рис. 2.** Апоптоз перицита капіляра кори головного мозку померлого хворого на цукровий діабет 2 типу. Зб.:  $\times 6000$ .



**Рис. 3.** Значне поширене розширення базальної мембрани з наявністю колагенових волокон у капілярі кори головного мозку померлого хворого на цукровий діабет 2 типу. Зб.:  $\times 6000$ .



**Рис. 4.** Перицити в артеріоло-капілярному сегменті кори головного мозку в померлого хворого на цукровий діабет 2 типу при ІГХ забарвленні антитілами до колагену IV типу. Мо *a-Hu Collagen IV, Clone CIV 22*. Зб.:  $\times 400$ .

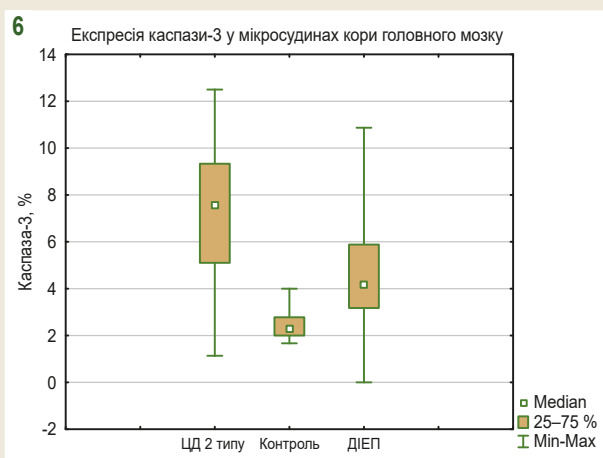
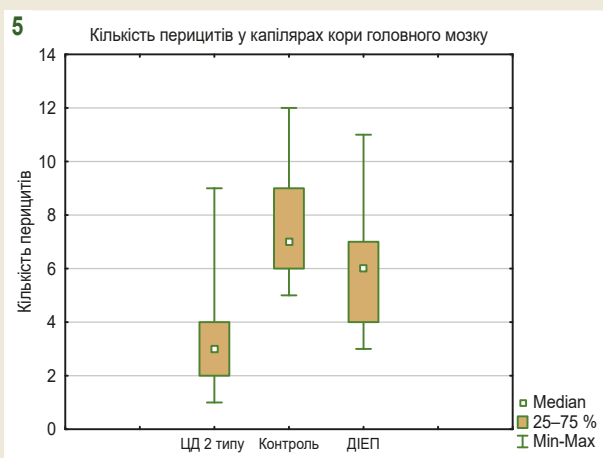
енцефалопатію цей показник дорівнював 6,00 (4,00; 7,00). Виявили статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ) меншу на 57,14 % кількість перицитів у капілярах кори головного мозку в групі померлих хворих на цукровий діабет 2 типу порівняно з групою померлих умовного контролю, та меншу на 50,00 % їхню кількість щодо групи померлих хворих на ДІЕП (рис. 5).

Протягом ІГХ дослідження апоптозу визначили: рівень експресії каспази-3 в клітинах капілярів і дрібних мікросудин кори головного мозку померлих хворих на ЦД 2 типу становив 7,57 (5,10; 9,33) %, у групі померлих умовного контролю – 2,29 (2,00; 2,78) %, а в групі померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію – 4,17 (3,18; 5,88) % (табл. 1). Тобто рівень експресії каспази-3 в клітинах капілярів і дрібних мікросудин кори головного мозку у померлих хворих на ЦД 2 типу статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ) на 230,85 % вищий порівняно з

групою померлих умовного контролю, на 81,67 % вищий щодо групи померлих хворих на ДІЕП (рис. 6).

Розвиток фіброзу стінок капілярів і дрібних мікросудин при цукровому діабеті 2 типу також підтвердили результати ІГХ досліджень експресії в них колагену IV типу. Площа експресії колагену IV типу в стінках капілярів і дрібних артеріол кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу становила 1,86 (1,51; 2,60) %, у групі померлих умовного контролю – 1,52 (1,36; 2,03) % (табл. 1). Отже, площа експресії колагену IV типу в стінках мікросудин кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу вірогідно ( $p < 0,05$ ) на 22,96 % більша, ніж у групі померлих умовного контролю. Площа експресії колагену IV типу в стінках мікросудин кори головного мозку в групі померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію становила 1,91 (1,47; 2,48) % і статистично не відрізнялася від цього





**Рис. 5.** Порівняння кількості перицитів у капілярах кори головного мозку померлих хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу), у групах померлих умовного контролю (контроль) та дисциркуляторно-ішемічної енцефалопатії (ДІЕП).

**Рис. 6.** Порівняння рівня експресії каспази-3 у клітинах дрібних мікросудин кори головного мозку померлих хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу), в групах померлих умовного контролю (контроль) та дисциркуляторно-ішемічної енцефалопатії (ДІЕП).

**Таблиця 1.** Порівняльна характеристика показників експресії каспази-3 і колагену IV типу в мікросудинах кори головного мозку в групах померлих хворих на цукровий діабет 2 типу, осіб умовного контролю та хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію, Ме (Q1; Q3), %

Параметри ІГХ маркерів	Показник експресії ІГХ маркерів у групах дослідження		
	Група ЦД 2 типу, n = 10	Група умовного контролю, n = 10	Група ДІЕП, n = 10
Рівень експресії каспази-3	7,57 (5,10; 9,33)*#	2,29 (2,00; 2,78)	4,17 (3,18; 5,88)*
Відносна площа експресії колагену IV	1,86 (1,51; 2,60)*#	1,52 (1,36; 2,03)	1,91 (1,47; 2,48)*

\*: статистично вірогідні відмінності від групи умовного контролю (p < 0,05); #: статистично вірогідні відмінності від групи ДІЕП (p < 0,05).

**Таблиця 2.** Морфометричні параметри капілярів кори головного мозку в групах померлих хворих на ЦД 2 типу, осіб умовного контролю та хворих на ДІЕП, Ме (Q1; Q2)

Морфометричні параметри	Група ЦД 2 типу, n = 20	Група умовного контролю, n = 20	Група ДІЕП, n = 20
Зовнішній діаметр – D1, мкм	7,72 (6,86; 9,05)	7,35 (6,81; 8,84)	7,88 (6,79; 9,80)*
Внутрішній діаметр – D2, мкм	5,44 (4,55; 6,59)*#	6,03 (5,26; 7,20)	5,98 (4,83; 7,72)
Товщина стінки – Tw, мкм	1,11 (0,95; 1,36)*#	0,67 (0,55; 0,85)	0,97 (0,84; 1,13)*

\*: статистично вірогідні відмінності від групи умовного контролю (p < 0,05); #: статистично вірогідні відмінності від групи ДІЕП (p < 0,05).

показника в групі померлих хворих на цукровий діабет 2 типу (табл. 1).

У результаті порівняльного комп'ютерно-морфометричного аналізу встановили: зовнішній діаметр (D1) капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу становив 7,72 (6,86; 9,05) мкм, що статистично вірогідно (p < 0,05) на 4,9 % більше порівняно з показником групи померлих умовного контролю (D1 – 7,35 (6,81; 8,84) мкм), вірогідно не відрізняється від цього показника групи померлих хворих на ДІЕП (D1 – 7,88 (6,79; 9,80) мкм) (табл. 2). Внутрішній діаметр (D2) капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу дорівнював 5,44 (4,55; 6,59) мкм; це статистично достовірно (p < 0,05) на 9,78 % менше, ніж відповідний параметр групи померлих умовного контролю (D2 – 6,03 (5,26; 7,20) мкм) і на 9,03 % менше, ніж у померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну

енцефалопатію (D2 – 5,98 (4,83; 7,72) мкм) (табл. 2). Товщина стінки (Tw) капілярів кори головного мозку у померлих хворих на цукровий діабет 2 типу становила 1,11 (0,95; 1,36) мкм, що статистично вірогідно (p < 0,05) на 66,62 % більше порівняно з цим параметром групи померлих умовного контролю (Tw – 0,67 (0,55; 0,85) мкм) та на 20,31 % більше щодо показника групи померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію (Tw – 0,97 (0,84; 1,13) мкм) (табл. 2).

### Обговорення

У результаті дослідження встановили: при ЦД 2 типу капіляри кори головного мозку втрачають перицити через їхній апоптоз: кількість перицитів у кортикальних капілярах у групі ЦД 2 типу статистично вірогідно менша на 57,14 % порівняно з групою УК та на 50,00 %

менша щодо групи ДІЕП; рівень експресії каспази-3 у кортикальних мікросудинах у групі ЦД 2 типу вірогідно вищий на 230,85 % порівняно з групою УК і на 81,67 % вищий, ніж у групі ДІЕП. Зважаючи на те, що перичити, локалізовані на межі між кров'ю і тканиною мозку, виконують роль центральних хімічних сенсорів у забезпеченні взаємопов'язаних функцій клітин єдиної нейроваскулярної одиниці [9], їх втрата при цукровому діабеті 2 типу призводить до тяжких структурно-функціональних порушень у системі гемомікроциркуляції головного мозку. В нормі церебральні капіляри мають більше співвідношення перичитів та ендотеліальних клітин (від 1:1 до 1:3), і майже 70–80 % площі поверхні капілярів вкрито відростками перичитів [10].

Перичити капілярів контролюють клітинний цикл ендотелію, а також підтримують молекулярно-волоконистий склад базальної мембрани мікросудин шляхом синтезу протеогліканів, колагену й еластину [9]. Перичити відіграють важливу роль у стабільному функціонуванні гематоенцефалічного бар'єра, ауторегуляції капілярного кровотоку [11], регуляції судинної реології та проникності судин [9], а також в ангиогенезі [10]. Перичити через експресію ламінінів сприяють прикріпленню периваскулярних ніжок астроцитів до структур гематоенцефалічного бар'єра [12]. Ламінін 211 у базальній мембрані судин взаємодіє з дистрофіном в астроцитах та утворює молекулярний міст до аквапоринів AQP4, утримуючи їх на мембранах перикапілярних ніжок астроцитів [13].

Перичити мають рецептори і внутрішньоклітинні сигнальні механізми для відповіді на нейротрансмітери і вазоактивні медіатори (норадреналін, ангіотензин-ІІ, ендотелін-1, аденозин, ендотеліальний оксид азоту) [14], вони активно розслабляються і скорочуються, змінюють церебральний кровотік у відповідь на локальні зміни нейрональної активності [15]. Перичити судин головного мозку мають властивості імунорегулювальних клітин, адже реагують на про- і протизапальні молекули, їхню експресію, регулюють екстравазацію і перенос лейкоцитів, контролюють активацію імунних клітин, як-от Т-клітини, макрофаги і мікроглія [16].

Під час електронної мікроскопії головного мозку в померлих хворих на ЦД 2 типу у кортикальних капілярах кори виявили апоптоз перичитів і поодиноких ендотеліальних клітин, а також вогнищеві та поширені значні розширення субендотеліальних базальних мембран із накопиченням у них електроннощільного аморфного матеріалу та колагенових фібрил. Подібні ультраструктурні зміни в нирках на першому місяці експериментального алоксанового діабету визначили С. Maric-Bilkan, E. R. Flynn, A. R. Chade [17], які описали потовщення базальної мембрани капілярів через накопичення аморфного матеріалу, її розшарування через вплетіння колагенових мікрофібрил, збільшення відкладень ліпопротеїдів, суттєвий набряк і дистрофічні зміни ендотеліальних клітин, а також зменшення мікропіноцитозу, що свідчить про зниження активності трансцелюлярних обмінних процесів.

Відомості щодо підвищення рівня апоптозу в перичитах церебральних мікросудин головного мозку навели Т. О. Price et al. [18]. Автори пов'язують апоптоз із високим рівнем глюкози, що призводить до внутрішньоклітинної гіперглікемії, прискореного окисного метаболізму глюкози та патологічного рівня супероксиду в церебральних перичитах, нечутливих до інсуліну [18]. За даними досліджень Р. Patrick et al., зменшення кількості перичитів мозку в культурі клітин із високою концентрацією глюкози *in vivo* та *in vitro* пов'язане з окислювальним стресом і генерацією активних форм кисню [19].

Втрата перичитів – встановлений факт розвитку діабетичної ретинопатії, механізми виникнення і прогресування якої ще не з'ясовано [20]. У 2011 році припустили, що втрата перичитів мікросудинами сітківки відбувається через їхній апоптоз в умовах гіперглікемії, що спричиняє підвищення вивільнення глутамату, зниження рівня сигналів трофічних факторів, окислювальний стрес, підвищення концентрації інтерлейкінів (ІІ-1 $\beta$ , ІІ-6, ІІ-8) та туморонекротичного фактора [21].

Зменшення кількості перичитів при хворобі Альцгеймера викликає втрату щільних контактів між ендотеліальними клітинами та призводить до збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єра [22]. Хронічна гіперперфузія головного мозку у гризунів призводить до втрати перичитів і зменшення покриття перичитами церебральних мікросудин, а також до збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єра [23].

Sweeney M. D. et al. в огляді нейродегенеративних захворювань вказують на можливість збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єра через пошкодження матриксними металопротеїназами щільних з'єднань ендотелію. Збільшення проникності гематоенцефалічного бар'єра також спричиняють проангіогенні фактори, включаючи фактор росту ендотелію судин, який стимулює ангиогенез з утворенням негерметичних капілярів зі зменшеною кількістю перичитів та зниженою перфузією [24].

У нещодавніх дослідженнях з використанням мишей лінії PDGFR $\beta$  +/- з помірною втраченою перичитів капілярів мозку показано істотне збільшення часу адаптивної реакції мозкового кровотоку на локальну нейронну активацію (Kisler et al., 2017) [25]. Встановлено, що миші з дефіцитом перичитів втрачають AQP4 на периваскулярних ніжках астроцитів [12]. Persidsky Y. et al. (2015) вважають, що дисфункція перичитів може спричинити пошкодження гематоенцефалічного бар'єра кількома механізмами, включаючи зміну синтезу компонентів базальної мембрани мікросудин, зменшення молекул, що підтримують бар'єрну функцію мікросудин, підвищену секрецію прозапальних цитокінів і металопротеїназ [26]. Наведені результати досліджень різних авторів свідчать, що втрата перичитів при цукровому діабеті зумовлює прогресування просочення церебральних капілярів компонентами плазми крові та розвиток фіброзу судинних стінок, які в нашому дослідженні підтверджені гістохімічними, імуногістохімічними та морфометричними методиками в померлих хворих на ЦД 2 типу.



За результатами морфометрії, кортикальні капіляри у померлих хворих на ЦД 2 типу мали вірогідно більший на 4,9 % зовнішній діаметр, менший на 9,78 % внутрішній діаметр та на 66,62 % потовщені стінки (порівняно з групою умовного контролю) через накопичення ШИК+ компонентів плазми крові та фіброз, підтверджений більшою на 22,96 % площею експресії колагену IV типу в стінках мікросудин. Хронічна гіперглікемія на тлі дефіциту перицитів впливає на підвищену продукцію ендотеліальними клітинами матричного фібронектину та колагену IV типу [27], спричиняє прогресування фіброзу стінки мікросудин. За даними Z. Amtul et al., фіброз стінки церебральних мікросудин зумовлений суттєво підвищеним рівнем експресії матричної металопротеїнази-9 (MMP-9) [28] і стійким дисбалансом її співвідношення до тканинного інгібітора металопротеїнази-1, що показано в нашому попередньому дослідженні [29].

Отже, патоморфологічні ознаки діабетичної церебральної мікроангіопатії в померлих хворих на цукровий діабет 2 типу – втрата перицитів через їхній апоптоз, суттєві розширення базальних мембран із накопиченням у них електроннощільного аморфного матеріалу та колагенових фібрил, значуще потовщення стінок мікросудин через накопичення в них ШИК-позитивних компонентів плазми крові та фіброз зі збільшенням колагену IV типу.

## Висновки

1. У потовщених стінках капілярів кори головного мозку померлих хворих на ЦД 2 типу кількість перицитів вірогідно менша на 57,14 %, ніж у групі померлих хворих умовного контролю та на 50,00 % менша, ніж у групі померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію.

2. При цукровому діабеті 2 типу в капілярах кори головного мозку, за даними електронної мікроскопії, визначили апоптоз перицитів і поодиноких ендотеліальних клітин, накопичення колагенових фібрил та електроннощільного аморфного матеріалу в суттєво розширених базальних мембранах, а також збільшення вмісту колагену 4 типу за результатами імуногістохімічних досліджень.

3. Рівень апоптозу в клітинах мікросудин кори головного мозку, визначений за рівнем експресії каспази-3, у померлих хворих на ЦД 2 типу значно (на 230,85 %) вищий порівняно з групою умовного контролю та на 81,67 % вищий, ніж у групі померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію.

4. Стінки капілярів кори головного мозку померлих хворих на цукровий діабет 2 типу суттєво потовщені через просочення білками плазми крові та фіброз (їхня товщина більша на 66,62 % та 20,31 % порівняно з групою умовного контролю та з групою померлих хворих на дисциркуляторно-ішемічну енцефалопатію), а також мають менший внутрішній діаметр (на 9,78 % та 9,03 % менший, ніж у групах померлих хворих умовного контролю та осіб із дисциркуляторно-ішемічною енцефалопатією відповідно).

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення механізмів, задіяних у процесі патологічного ремоделювання мікроциркуляторного русла головного мозку та периваскулярного простору при цукровому діабеті 2 типу.

## Фінансування

Дослідження виконане в рамках науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету «Морфогенез деструктивно-репаративних процесів головного мозку при захворюваннях судинного та токсико-метаболічного ґенезу», № держреєстрації 0118U004253.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Туманський В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет, Україна, заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: [0000-0001-8267-2350](https://orcid.org/0000-0001-8267-2350)

Авраменко Ю. М., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Information about authors:

Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Vice-Rector for Research, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine.

Avramenko Yu. M., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Туманский В. А., др мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, Украина, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Авраменко Ю. М., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## Список літератури

- [1] Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025 / X. Lin, Y. Xu, X. Pan et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, Iss. 1. 14790. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71908-9>
- [2] Diabetes. World Health Organization. URL : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- [3] Garcia-Serrano A. M., Duarte J. Brain Metabolism Alterations in Type 2 Diabetes: What Did We Learn From Diet-Induced Diabetes Models?. *Frontiers in neuroscience*. 2020. Vol. 14. P. 229. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00229>
- [4] The Translational Significance of the Neurovascular Unit / H. L. McConnell, C. N. Kersch, R. L. Woltjer, E. A. Neuwelt. *The Journal of biological chemistry*. 2017. Vol. 292, Iss. 3. P. 762-770. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.760215>
- [5] Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: stroke, cognitive dysfunction, and depression / T. T. van Sloten, S. Sedaghat, M. R. Carnethon et al. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2020. Vol. 8, Iss. 4. P. 325-336. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30405-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30405-X)
- [6] Prolonged systemic hyperglycemia does not cause pericyte loss and permeability at the mouse blood-brain barrier / M. A. Mäe, T. Li, G. Bertuzzi et al. *Scientific reports*. 2018. Vol. 8, Iss. 1. P. 17462. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35576-0>
- [7] Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2

- Mouse Models / S. Rom, V. Zuluaga-Ramirez, S. Gajghate et al. *Molecular neurobiology*. 2019. Vol. 56, Iss. 3. P. 1883-1896. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>
- [8] Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина, 2002. 240 с.
- [9] Pericytes and Neurovascular Function in the Healthy and Diseased Brain / L. S. Brown, C. G. Foster, J. M. Courtney et al. *Frontiers in cellular neuroscience*. 2019. Vol. 13. P. 282. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00282>
- [10] Brain Microvascular Pericytes in Vascular Cognitive Impairment and Dementia / M. T. Uemura, T. Maki, M. Ihara et al. *Frontiers in aging neuroscience*. 2020. Vol. 12. Vol. 80. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00080>
- [11] Molecular mechanisms underlying therapeutic potential of pericytes / C. R. Harrell, B. Simovic Markovic, C. Fellabaum et al. *Journal of biomedical science*. 2018. Vol. 25, Iss. 1. P. 21. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0423-7>
- [12] Geranmayeh M. H., Rahbarghazi R., Farhoudi M. Targeting pericytes for neurovascular regeneration. *Cell communication and signaling : CCS*. 2019. Vol. 17, Iss. 1. P. 26. <https://doi.org/10.1186/s12964-019-0340-8>
- [13] A molecular atlas of cell types and zonation in the brain vasculature / M. Vanlandewijck, L. He, M. A. Mäe et al. *Nature*. 2018. Vol. 554, Iss. 7693. P. 475-480. <https://doi.org/10.1038/nature25739>
- [14] Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease / C. N. Hall, C. Reynell, B. Gesslein et al. *Nature*. 2014. Vol. 508, Iss. 7494. P. 55-60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- [15] Stimulation-induced increases in cerebral blood flow and local capillary vasoconstriction depend on conducted vascular responses / C. Cai, J. C. Fordsmann, S. H. Jensen et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2018. Vol. 115, Iss. 25. E5796-E5804. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707702115>
- [16] Brain Pericytes As Mediators of Neuroinflammation / J. Rustenhoven, D. Jansson, L. C. Smyth, M. Dragunow. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2017. Vol. 38, Iss. 3. P. 291-304. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.12.001>
- [17] Maric-Bilkic C., Flynn E. R., Chade A. R. Microvascular disease precedes the decline in renal function in the streptozotocin-induced diabetic rat. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2012. Vol. 302, Iss. 3. P. F308-F315. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00421.2011>
- [18] Price T. O., Sheibani N., Shah G. N. Regulation of high glucose-induced apoptosis of brain pericytes by mitochondrial CA VA: A specific target for prevention of diabetic cerebrovascular pathology. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*. 2017. Vol. 1863, Iss. 4. P. 929-935. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.01.025>
- [19] Topiramate Protects Pericytes from Glucotoxicity: Role for Mitochondrial CA VA in Cerebrovascular Disease in Diabetes / P. Patrick, T. O. Price, A. L. Diogo et al. *Journal of endocrinology and diabetes*. 2015. Vol. 2, Iss. 2. P. 1-7. <https://doi.org/10.15226/2374-6890/2/2/00123>
- [20] Hayes K. L. Pericytes in Type 2 Diabetes. *Advances in experimental medicine and biology*. 2019. Vol. 1147. P. 265-278. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16908-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16908-4_12)
- [21] Barber A. J., Gardner T. W., Abcouwer S. F. The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011. Vol. 52, Iss. 2. P. 1156-1163. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6293>
- [22] Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer's disease / J. D. Sengillo, E. A. Winkler, C. T. Walker et al. *Brain pathology*. 2013. Vol. 23, Iss. 3. P. 303-310. <https://doi.org/10.1111/bpa.12004>
- [23] Experimental chronic cerebral hypoperfusion results in decreased pericyte coverage and increased blood-brain barrier permeability in the corpus callosum / Q. Liu, R. Radwanski, R. Babadjouni et al. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2017. Vol. 39, Iss. 2. P. 240-250. <https://doi.org/10.1177/0271678x17743670>
- [24] Sweeney M. D., Sagare A. P., Zlokovic B. V. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology*. 2018 Vol. 14, Iss. 3. P. 133-150. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2017.188>
- [25] Pericyte degeneration leads to neurovascular uncoupling and limits oxygen supply to brain / K. Kisler, A. R. Nelson, S. V. Rege et al. *Nature Neuroscience*. 2017. Vol. 20, Iss. 3. P. 406-416. <https://doi.org/10.1038/nn.4489>
- [26] Dysfunction of brain pericytes in chronic neuroinflammation / Y. Persidsky, J. Hill, M. Zhang et al. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2015. Vol. 36, Iss. 4. P. 794-807. <https://doi.org/10.1177/0271678x15606149>
- [27] Biswas S., Chakrabarti S. Increased Extracellular Matrix Protein Production in Chronic Diabetic Complications: Implications of Non-Coding RNAs. *Non-coding RNA*. 2019. Vol. 5, Iss. 1. P. 30. <https://doi.org/10.3390/ncrna5010030>
- [28] Pathological Changes in Microvascular Morphology, Density, Size and Responses Following Comorbid Cerebral Injury / Z. Amtul, J. Yang, T. Y. Lee, D. F. Cechetto. *Frontiers in aging neuroscience*. 2019. Vol. 11. P. 47. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00047>
- [29] Шаврин В. А., Авраменко Ю. Н. Иммуногистохимическая характеристика экспрессии маркеров MMP-9 и TIMP-1 в коре головного мозга при сахарном диабете 2 типа. *Запорожский медицинский журнал*. 2020. Т. 22, № 4. С. 468-472. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.4.208355>

## References

- [1] Lin, X., Xu, Y., Pan, X., Xu, J., Ding, Y., Sun, X., Song, X., Ren, Y., & Shan, P. F. (2020). Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. *Scientific reports*, 10(1), 14790. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71908-9>
- [2] World Health Organization. (2021, November 10). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- [3] Garcia-Serrano, A. M., & Duarte, J. (2020). Brain Metabolism Alterations in Type 2 Diabetes: What Did We Learn From Diet-Induced Diabetes Models?. *Frontiers in neuroscience*, 14, 229. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00229>
- [4] McConnell, H. L., Kersch, C. N., Woltjer, R. L., & Neuwelt, E. A. (2017). The Translational Significance of the Neurovascular Unit. *The Journal of biological chemistry*, 292(3), 762-770. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.760215>
- [5] Van Sloten, T. T., Sedaghat, S., Carnethon, M. R., Launer, L. J., & Stehouwer, C. (2020). Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: stroke, cognitive dysfunction, and depression. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 8(4), 325-336. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30405-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30405-X)
- [6] Mäe, M. A., Li, T., Bertuzzi, G., Raschperger, E., Vanlandewijck, M., He, L., Nahar, K., Dalheim, A., Hofmann, J. J., Laviña, B., Keller, A., Betsholtz, C., & Genové, G. (2018). Prolonged systemic hyperglycemia does not cause pericyte loss and permeability at the mouse blood-brain barrier. *Scientific reports*, 8(1), 17462. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35576-0>
- [7] Rom, S., Zuluaga-Ramirez, V., Gajghate, S., Seliga, A., Winfield, M., Heldt, N. A., Kolpakov, M. A., Bashkirova, Y. V., Sabri, A. K., & Persidsky, Y. (2019). Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Molecular neurobiology*, 56(3), 1883-1896. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>
- [8] Автандилов, Г. Г. (2002). *Osnovy kolichestvennoi patologicheskoi anatomii* [Fundamentals of quantitative pathological anatomy]. Moscow: Meditsina. [in Russian].
- [9] Brown, L. S., Foster, C. G., Courtney, J. M., King, N. E., Howells, D. W., & Sutherland, B. A. (2019). Pericytes and Neurovascular Function in the Healthy and Diseased Brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 282. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00282>
- [10] Uemura, M. T., Maki, T., Ihara, M., Lee, V., & Trojanowski, J. Q. (2020). Brain Microvascular Pericytes in Vascular Cognitive Impairment and Dementia. *Frontiers in aging neuroscience*, 12, 80. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00080>
- [11] Harrell, C. R., Simovic Markovic, B., Fellabaum, C., Arsenijevic, A., Djonov, V., & Volarevic, V. (2018). Molecular mechanisms underlying therapeutic potential of pericytes. *Journal of biomedical science*, 25(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0423-7>
- [12] Geranmayeh, M. H., Rahbarghazi, R., & Farhoudi, M. (2019). Targeting pericytes for neurovascular regeneration. *Cell communication and signaling : CCS*, 17(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s12964-019-0340-8>
- [13] Vanlandewijck, M., He, L., Mäe, M. A., Andrae, J., Ando, K., Del Gaudio, F., Nahar, K., Lebouvier, T., Laviña, B., Gouveia, L., Sun, Y., Raschperger, E., Räsänen, M., Zarb, Y., Mochizuki, N., Keller, A., Lendahl, U., & Betsholtz, C. (2018). A molecular atlas of cell types and zonation in the brain vasculature. *Nature*, 554(7693), 475-480. <https://doi.org/10.1038/nature25739>

- [14] Hall, C. N., Reynell, C., Gesslein, B., Hamilton, N. B., Mishra, A., Sutherland, B. A., O'Farrell, F. M., Buchan, A. M., Lauritzen, M., & Attwell, D. (2014). Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, 508(7494), 55-60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- [15] Cai, C., Fordsmann, J. C., Jensen, S. H., Gesslein, B., Lønstrup, M., Hald, B. O., Zambach, S. A., Brodin, B., & Lauritzen, M. J. (2018). Stimulation-induced increases in cerebral blood flow and local capillary vasoconstriction depend on conducted vascular responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(25), E5796-E5804. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707702115>
- [16] Rustenhoven, J., Jansson, D., Smyth, L. C., & Dragunow, M. (2017). Brain Pericytes As Mediators of Neuroinflammation. *Trends in pharmacological sciences*, 38(3), 291-304. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.12.001>
- [17] Maric-Bilkan, C., Flynn, E. R., & Chade, A. R. (2012). Microvascular disease precedes the decline in renal function in the streptozotocin-induced diabetic rat. *American journal of physiology. Renal physiology*, 302(3), F308-F315. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00421.2011>
- [18] Price, T. O., Sheibani, N., & Shah, G. N. (2017). Regulation of high glucose-induced apoptosis of brain pericytes by mitochondrial CA VA: A specific target for prevention of diabetic cerebrovascular pathology. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1863(4), 929-935. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.01.025>
- [19] Patrick, P., Price, T. O., Diogo, A. L., Sheibani, N., Banks, W. A., & Shah, G. N. (2015). Topiramate Protects Pericytes from Glucotoxicity: Role for Mitochondrial CA VA in Cerebromicrovascular Disease in Diabetes. *Journal of endocrinology and diabetes*, 2(2), 1-7. <https://doi.org/10.15226/2374-6890/2/2/00123>
- [20] Hayes K. L. (2019). Pericytes in Type 2 Diabetes. *Advances in experimental medicine and biology*, 1147, 265-278. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16908-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16908-4_12)
- [21] Barber, A. J., Gardner, T. W., & Abcouwer, S. F. (2011). The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(2), 1156-1163. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6293>
- [22] Sengillo, J. D., Winkler, E. A., Walker, C. T., Sullivan, J. S., Johnson, M., & Zlokovic, B. V. (2013). Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer's disease. *Brain pathology*, 23(3), 303-310. <https://doi.org/10.1111/bpa.12004>
- [23] Liu, Q., Radwanski, R., Babadjouni, R., Patel, A., Hodis, D. M., Baumbacher, P., Zhao, Z., Zlokovic, B., & Mack, W. J. (2019). Experimental chronic cerebral hypoperfusion results in decreased pericyte coverage and increased blood-brain barrier permeability in the corpus callosum. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 39(2), 240-250. <https://doi.org/10.1177/0271678X17743670>
- [24] Sweeney, M. D., Zhao, Z., Montagne, A., Nelson, A. R., & Zlokovic, B. V. (2019). Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiological reviews*, 99(1), 21-78. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2017>
- [25] Kisler, K., Nelson, A. R., Rege, S. V., Ramanathan, A., Wang, Y., Ahuja, A., Lasic, D., Tsai, P. S., Zhao, Z., Zhou, Y., Boas, D. A., Sakadžić, S., & Zlokovic, B. V. (2017). Pericyte degeneration leads to neurovascular uncoupling and limits oxygen supply to brain. *Nature neuroscience*, 20(3), 406-416. <https://doi.org/10.1038/nn.4489>
- [26] Persidsky, Y., Hill, J., Zhang, M., Dykstra, H., Winfield, M., Reichenbach, N. L., Potula, R., Mukherjee, A., Ramirez, S. H., & Rom, S. (2016). Dysfunction of brain pericytes in chronic neuroinflammation. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 36(4), 794-807. <https://doi.org/10.1177/0271678X15606149>
- [27] Biswas, S., & Chakrabarti, S. (2019). Increased Extracellular Matrix Protein Production in Chronic Diabetic Complications: Implications of Non-Coding RNAs. *Non-coding RNA*, 5(1), 30. <https://doi.org/10.3390/ncrna5010030>
- [28] Amtul, Z., Yang, J., Lee, T. Y., & Cechetto, D. F. (2019). Pathological Changes in Microvascular Morphology, Density, Size and Responses Following Comorbid Cerebral Injury. *Frontiers in aging neuroscience*, 11, 47. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00047>
- [29] Shavrin, V. O., & Avramenko, Yu. M. (2020). Immunogistokhimičeskaya kharakteristika ekspressii markerov MMP-9 i TIMP-1 v kore golovnogo mozga pri sakharnom diabete 2 tipa [Immunohistochemical characteristics of MMP-9 and TIMP-1 markers expression in the cerebral cortex in diabetes mellitus type 2]. *Zaporozhye medical journal*, 22(4), 468-472. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.4.208355>





## Медико-географічні детермінанти онкопатології населення

М. П. Гребняк<sup>1,A-F</sup>, О. В. Кірсанова<sup>1,B,C</sup>, В. В. Таранов<sup>1,B</sup>, Н. Г. Мікрюкова<sup>2,B</sup>

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>Донецький національний медичний університет, м. Маріуполь, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – аналіз фактора ризиків онкопатології, що постійно діють, для визначення медико-географічних особливостей та оцінювання їхнього впливу на онкопатологію населення Запорізької області.

**Матеріали та методи.** Просторово-географічним та аналітико-статистичним методами виконали медико-географічну диференціацію територій з оцінюванням якості навколишнього природного середовища. Епідеміологічне дослідження злоякісних новоутворень здійснили ретроспективно за 2004–2015 рр. за МКХ-10. Вплив довкілля на онкопатологію вивчали за допомогою атрибутивної фракції.

**Результати.** Геоактивний простір характеризується розмаїттям природно-кліматичних умов: літосфери, гідросфери та ландшафтів. Основні фізико-географічні об'єкти Запорізького краю (Український кристалічний щит, р. Дніпро, Азовське море) сформували шість зон, що відрізняються багатогранністю системоформувальних елементів. Визначили специфічні риси розривних порушень літосфери Українського кристалічного щита: аномально висока електропровідність земної кори, інтенсивні електромагнітні поля, висока концентрація радону у водоносних горизонтах і потоки високоенергетичних флюїдів.

**Висновки.** Найвищий геопатогенний вплив спостерігають у зоні розлому Українського кристалічного щита, де зареєстрували найвищі значення атрибутивної фракції злоякісних новоутворень з-поміж усього населення (26,8 %), серед дорослого (25,4 %) та працездатного (32,7 %) населення. Найслабший онкопатологічний потенціал природних умов виявили в долині прориву Дніпра та на Приазовській височині, де атрибутивна фракція майже для всіх показників не перевищувала 8,2 %.

**Ключові слова:** медична географія, онкопатологія, опромінення.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 363–368**

### Medical and geographical determinants of oncopathology in the population

M. P. Hrebniak, O. V. Kirsanova, V. V. Taranov, N. H. Mikriukova

**The aim:** to study the permanent risk factor of oncopathology in order to determine its medical and geographical features and assess their impact on oncopathology of the population of Zaporizhzhia region.

**Materials and methods.** By means of spatial and geographical, as well as analytical and statistical methods, territories were medically and statistically differentiated, with the assessment of the natural environment quality. Epidemiological study of malignant neoplasms was conducted retrospectively for the period of 2004–2015, in accordance with the International Classification of Diseases ICD-10. Determination of environmental impact on oncopathology was performed using the attributive fraction.

**Results.** Geoactive space is characterized by a variety of natural and climatic conditions of lithosphere, hydrosphere and landscapes. The main physical and geographical objects of the Zaporizhzhia region (Ukrainian Crystal Shield, the Dnipro, the Sea of Azov) form six zones, which differ in the diversity of system-forming elements. Specific features of discontinuous disturbances of the lithosphere of the Ukrainian crystal shield are abnormally high electrical conductivity of the earth's crust, intense electromagnetic fields, high concentration of radon in aquifers, and streams of high-energy fluids.

**Conclusions.** The highest geopathogenic impact is manifested in the fault zone of the Ukrainian crystal shield. The highest values of the attributive fraction of malignant neoplasms were registered in this zone among the whole population (26.8 %), among the adult population (25.4 %) and the able-bodied population (32.7 %). The oncopathological potential of natural conditions was least manifested in the valley of the Dnipro breakthrough and the Azov Upland, where the attributive fraction for almost all indicators did not exceed 8.2 %.

**Key words:** medical geography, oncopathology, irradiation.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 363–368**

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239893>

UDC 614.1:911.3]:616-006.6

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239893](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239893)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 363–368

**Key words:** medical geography, oncopathology, irradiation.

\*E-mail: [kirsanova@zsmu.zp.ua](mailto:kirsanova@zsmu.zp.ua)

Received: 13.09.2021 // Revised: 01.10.2021 // Accepted: 06.10.2021



## Медико-географические детерминанты онкопатологии населения

Н. П. Гребняк, Е. В. Кирсанова, В. В. Таранов, Н. Г. Микрюкова

**Цель работы** – анализ постоянно действующего фактора риска онкопатологии для определения медико-географических особенностей и оценки их влияния на онкопатологию населения Запорожской области.

**Материалы и методы.** Пространственно-географическим и аналитико-статистическим методами проведена медико-географическая дифференциация территорий с оценкой качества окружающей природной среды. Эпидемиологическое исследование злокачественных новообразований проведено ретроспективно за 2004–2015 гг. в соответствии с МКБ-10. Влияние окружающей среды на онкопатологию изучали с помощью атрибутивной фракции.

**Результаты.** Геоактивное пространство характеризуется разнообразием природно-климатических условий: литосферы, гидросферы и ландшафтов. Основные физико-географические объекты Запорожского края (Украинский кристаллический щит, р. Днепр, Азовское море) сформировали шесть зон, отличающихся многогранностью системообразующих элементов. Определены специфические черты разрывных нарушений литосферы Украинского кристаллического щита: аномально высокая электропроводность земной коры, интенсивные электромагнитные поля, высокая концентрация радона в водоносных горизонтах и потоки высокоэнергетических флюидов.

**Выводы.** Самое сильное геопатогенное влияние наблюдали в зоне разлома Украинского кристаллического щита, где зарегистрированы высокие значения атрибутивной фракции злокачественных новообразований среди всего населения (26,8 %), среди взрослого (25,4 %) и трудоспособного (32,7 %) населения. Онкопатологический потенциал природных условий в меньшей степени проявился в долине прорыва Днепра и на Приазовской возвышенности, где атрибутивная фракция почти для всех показателей не превышала 8,2 %.

**Ключевые слова:** медицинская география, онкопатология, облучение.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 363–368**

Природно-кліматичні умови та геоактивний простір відіграють важливу роль у формуванні здоров'я населення. Так, серед населення поширюються індикаторні патології, тобто специфічні патологічні стани або захворювання, що пов'язані зі специфікою території. Фактори довкілля можуть бути причиною розвитку захворювань, а також зумовлювати їхній патоморфоз. Характерні риси цих патологій – тривала дія етіологічного чинника малої інтенсивності на популяцію та системний характер [1].

Поширені індикаторні патології – злоякісні новоутворення. Фактори довкілля та спосіб життя мають пріоритетне значення в етіології злоякісних новоутворень [2,3]. За сучасними оцінками, внесок довкілля в онкологічну смертність становить до 20 % залежно від екологічного стану територій. За даними ВООЗ, внесок забруднення повітря у смертність від раку легень становить 17 % [4].

Радіаційний стан довкілля також суттєво впливає на онкопатологию. Пріоритетне джерело природного опромінення населення України – радон, що зумовлює майже 2/3 загальної дози [5].

Отже, медико-географічні дослідження спрямовані на актуальні проблеми природних ризиків для здоров'я, що діють постійно. Медико-географічний аналіз дає змогу визначати території, що мають бути пріоритетними для впровадження управлінських заходів зі збереження громадського здоров'я.

## Мета роботи

Аналіз фактора ризиків онкопатології, що постійно діють, для визначення медико-географічних особливостей та оцінювання їхнього впливу на онкопатологию населення Запорізької області.

## Матеріали і методи дослідження

Для характеристики ризиків онкопатології склали геоінформаційну базу даних захворюваності на злоякісні новоутворення на картографічній основі. Епідеміологічне дослідження злоякісних новоутворень здійснили ретроспективно за 2004–2015 рр. за МКБ-10. Використали матеріали медичної статистики в Запорізькій області, картографічну інформацію опублікованих джерел, а також власні аналітичні дані. Загалом у базу даних внесли та проаналізували майже 14 тисяч одиниць інформації. Під час роботи показники аналізували у відносних величинах (на 100 тис.).

За допомогою просторово-географічного й аналітико-статистичних методів здійснили медико-географічну диференціацію територій з оцінюванням якості довкілля. Неоднорідність літосфери, гідросфери, геохімічних ландшафтів детермінована геопатогенними зонами Українського кристалічного щита, Дніпра й Азовського моря. На підставі природно-геологічних і природно-кліматичних характеристик розрізняли шість зон: долина прориву Дніпра (ДПД), Оріхово-Павлоградська шовна зона Українського кристалічного щита (ОПШЗ), Приазовська височина (ПВ), Приазовська берегова рівнина (ПБР), Лівобережна Нижньодніпровська рівнина (ЛНДР) та степова зона (СЗ).

Вплив довкілля на онкопатологию в різних зонах визначали за допомогою атрибутивної фракції (АФ), котру розраховували як відношення різниці ризиків між експонованою та неекспонованою групами населення до ризику виникнення несприятливого ефекту в експонованій групі. Математичне опрацювання даних виконали методами варіаційної статистики [6–8], використавши Microsoft Excel.

## Результати

Результати дослідження щодо впливу природних умов на онкопатологію населення свідчать про їхнє найбільше значення в Оріхово-Павлоградській шовній зоні (рис. 1). Так, у цій зоні зареєстрували найбільші значення атрибутивної фракції злоякісних новоутворень серед працездатного населення (АФ – 32,7 %, 95 %, СІ 28,1–44,2%,  $p < 0,05$ ), усього населення (АФ – 26,8 %, 95 %, СІ 24,3–29,2 %,  $p < 0,05$ ) та дорослого населення (25,4 %, 95 %, СІ 22,7–28,1 %,  $p < 0,05$ ).

Про підвищений ризик онкопатології в розломній зоні Українського кристалічного щита свідчить і інший критерій причинно-наслідкового зв'язку – відношення шансів. Так, для онкозахворюваності серед усього населення цей показник дорівнював 1,4 (95 %, СІ 1,1–2,2,  $p < 0,05$ ), серед працездатного населення – 1,7 (95 %, СІ 1,1–2,6,  $p < 0,05$ ), серед населення старшого віку – 1,5 (95 %, СІ 1,1–2,3,  $p < 0,05$ ). ОПШЗ також посідала другі рангові місця за атрибутивною фракцією онкозахворюваності населення старшого працездатного віку та смертності всього населення.

## Обговорення

Головний чинник, що визначає умови життя населення, – геопатогенна зона шовного розлому Українського кристалічного щита. Відомі його особливості: інтенсивні аномалії високої електропровідності земної кори, геохімічні низькоомні глибинні аномалії, концентрації радіоактивного радону та токсичних елементів (Zn, Sr, Ni, Co, Mo) [6–8]. У механізмі формування онкопатології важлива етіопатогенетична роль належить електромагнітним полям у шовних розломах унаслідок пригнічення активності деяких клонів клітин імунної системи та хромосомних аберацій [9].

Характерна риса ОПШЗ – розривні порушення літосфери Українського кристалічного щита, що зумовлюють інтенсивні електромагнітні поля потоки високоенергетичних флюїдів глибинних розломів, зокрема хімічно найагресивніших водних [3]. Специфіка зони – висока концентрація радону у водоносних горизонтах (буцацькі, сарматські з зоною розщілин кристалічних порід докембрію). Індивідуальна доза опромінення через питну воду зі свердловин становить понад 700 мкЗв на рік. Через еманацию радону-222 з ґрунту еквівалентна рівноважна об'ємна активність у приміщеннях першого поверху будівель становить 153,2 Бк·м<sup>-3</sup> (максимальне значення ЕРОА – 62,1 Бк·м<sup>-3</sup>), а річна доза опромінення дітей досягає 9,7 мЗв·рік<sup>-1</sup> [10]. Онкопатогенність радону зумовлена пригніченням радіоактивних альфа-частинок до аерозолів із наступним надходженням у дихальні шляхи, руйнуванням м'яких тканин дихального тракту [11,12].

Погодні умови – супутній фактор, що зумовлює високий рівень захворюваності мешканців степової зони. Відомо, що найвищі рівні радону в атмосферному повітрі визначають під час спеки в суху та вітряну погоду внаслідок виходу еманцій із ґрунту [14]. Характерна

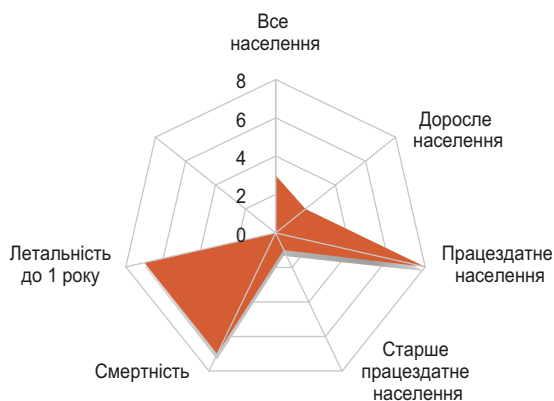
риса степової зони – суттєве навантаження техногенними поллютантами (пестициди, мінеральні добрива) внаслідок незворотного забруднення культивованих земель. Особливість їхньої дії полягає в тому, що вони, акумулюючись у ґрунті, трофологічними ланцюгами біогеоценозу зумовлюють канцерогенний ефект [15]. Встановлено, що в індивідів, які експоновані до них, підвищується ризик розвитку нирково-клітинного раку (ВР 1,82; ДІ 1,10–3,00). Зі збільшенням тривалості експозиції та кумулятивної дози відносний ризик зростає в 6 разів [2]. З кумулятивною експозицією до пестицидів та інших хімічних сполук-забруднювачів атмосферного повітря зростає ризик розвитку раку молочної залози [16].

Ризик онкопатології посилюється в зонах АЕС. Відомо, що в населення поблизу АЕС, які працюють, поведінка зумовлена усвідомленням свого ставлення до території. Так, у сільського населення виявили вірогідно вищий показник тривожності. Його специфічні риси – сильніші кореляційні зв'язки між якістю життя, безпекою та реактивною тривожністю, соматизацією, загальним здоров'ям [13]. Це підвищує ризик розвитку психосоматичних захворювань. У дослідженнях [17] встановлена суттєва залежність між емоційним стресом та онкологічними захворюваннями. У результаті нашого дослідження встановили: найменший онкологічний потенціал спостерігали в долині прориву Дніпра, на Приазовській береговій рівнині та Приазовській височині, де атрибутивна фракція майже для всіх показників не перевищувала 8,2 %.

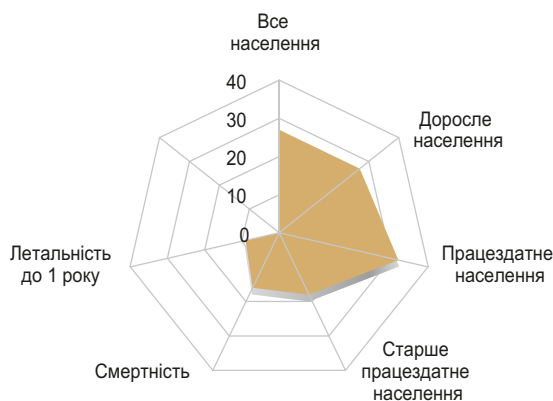
У результаті дослідження впливу природних умов на онкопатологію визначили доволі високий ризик для мешканців степової зони. Так, за атрибутивною фракцією їй належить одне перше місце (захворюваність населення старшого працездатного віку) та три других місця (захворюваність усього населення, дорослого населення та працездатного віку).

СЗ – безводна зона з посушливим кліматом, частими посухами, сильною спекою. Водоносні горизонти знаходяться в ачкагильських і сарматських відкладеннях, характеризуються доволі високими загальною мінералізацією, жорсткістю та радіоактивністю за радоном-222. У степовій зоні важливим фактором, що визначає умови життя населення, є імовірність виникнення надзвичайних ситуацій. Відомо, що природні надзвичайні ситуації – головні психосоматичні чинники онкопатології. 3-поміж таких природних станів сільське населення вирізняє посуху [13].

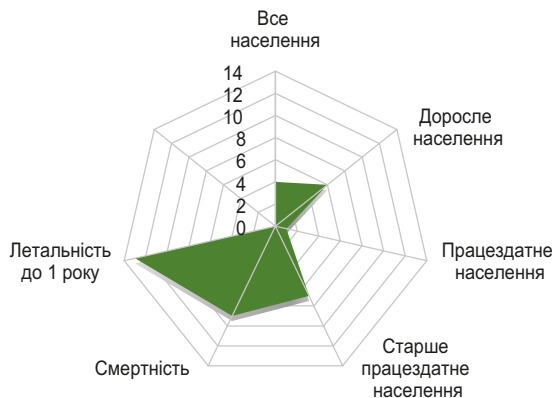
Найвища атрибутивна фракція смертності зареєстрована на Лівобережній Нижньодніпровській рівнині. Вона розташована у степовій зоні в межах Приазовсько-Причорноморської рівнини. На геопатогенність природних умов цієї зони суттєво впливає розгалужена мережа підземних водних потоків. Головні фактори, що визначають умови життя населення ЛНДР, – вплив АЕС на довкілля та можливість виникнення надзвичайних ситуацій. У сільського населення в зонах АЕС встановили кореляційний зв'язок між станом занепокоєності щодо ризику виникнення посухи та показниками соматизації,



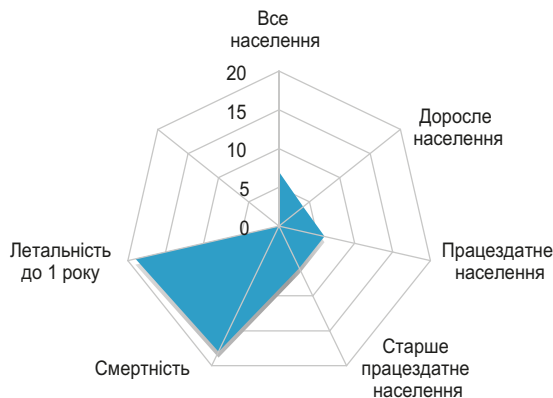
Долина прориву Дніпра



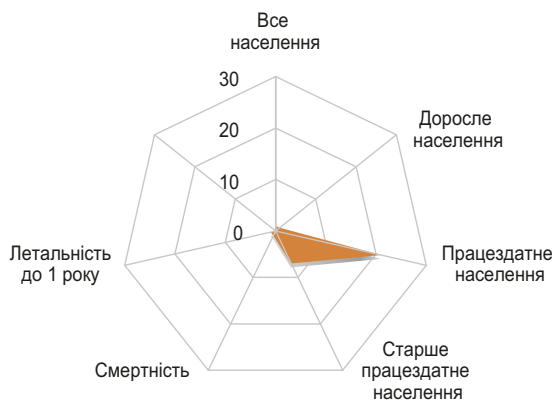
Оріхово-Павлоградська шовна зона Українського кристалічного щита



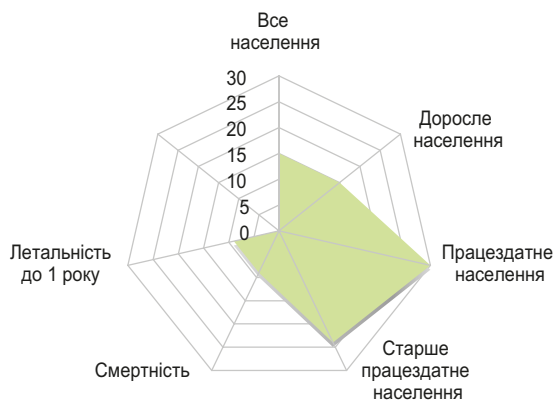
Приазовська берегова рівнина



Лівобережна Нижньодніпровська рівнина



Приазовська височина



Степова зона

Рис. 1. Характеристика впливу природних умов у різних зонах на злюкисні новоутворення населення за атрибутивним фактором.

тривоги та реактивної тривожності [13]. Специфічні риси долини прориву Дніпра – розміщення на Українському кристалічному щиті з численними кар'єрами, що підвищують проникність водоносних горизонтів. Середньгеометричне ЕРОА радону-222 в повітрі будівель становить 47 Бк·м<sup>3</sup>, а доза опромінення людей у них – 2,3 мЗв·рік. ПБР знаходиться в межах Азово-Причорноморської синеклізи. Клімат – південний морський із рівнем сумарної сонячної радіації майже 2360 мДж/м<sup>2</sup>. Верхній шар ґрунту представлений піщано-глинистими породами та вапняками з піском.

Основні шляхи опромінення населення поблизу АЕС – зовнішній, від опадів радіонуклідів на поверхню ґрунту та від радіоактивних хмар, що формуються викидами підприємства, та внутрішній, унаслідок інгаляційного надходження ізотопів в організм і вживання харчів. Річна доза опромінення жителів становить 0,17 мЗв. Ризик виникнення негативних наслідків у населення становить 3,87·10<sup>-4</sup> [17]. Ефект радіаційного фактора схожий із дією хімічних речовин канцерогенного характеру [18]. Радіоактивність водних горизонтів за радоном-222 становить 3,4–14,6 Бк/м<sup>3</sup>. Отже, природні умови в долині прориву Дніпра мають сприятливий характер для здоров'я.

Результати аналізу даних онкопатології показали, що природні умови найбільше впливають на захворюваність на злоякісні новоутворення серед працездатного (АФ до 32,7 %) та старшого (АФ до 24,9 %) віку. Високий ризик онкологічних захворювань, імовірно, детермінований комплексною дією природних факторів і шкідливих виробничих умов на популяційному рівні.

Значна атрибутивна фракція онкопатології у людей старшого віку вказує на збільшення імовірності канцерогенних ефектів. Відомо, що з віком суттєво зростає захворюваність на рак через накопичення впливу факторів ризику. Накопичення ризиків при цьому поглиблюється тенденцією до зниження ефективності механізмів клітинної регенерації [18]. Поширені фактори ризику розвитку раку в осіб старшого віку – нездоровий спосіб життя, хронічні захворювання та забруднення повітря.

## Висновки

1. Геоактивний простір характеризується розмаїттям природно-кліматичних умов: літосфери, гідросфери та ландшафтів. Основні фізико-географічні об'єкти Запорізького краю (Український кристалічний щит, р. Дніпро, Азовське море) сформували шість зон, що відрізняються багатогранністю системоформувальних елементів.

2. Найбільший геопатогенний вплив спостерігають у зоні розлому Українського кристалічного щита, де зареєстрували найвищі значення атрибутивної фракції злоякісних новоутворень з-поміж усього населення (26,8 %), серед дорослого (25,4 %) та працездатного (32,7 %) населення.

3. Визначили специфічні риси розривних порушень літосфери Українського кристалічного щита: аномально висока електропровідність земної кори, інтенсивні електромагнітні поля, висока концентрація радону в водоносних горизонтах і потоки високоенергетичних флюїдів.

4. Найслабший онкопатологічний потенціал природних умов виявили в долині прориву Дніпра та на Приазовській височині, де атрибутивна фракція майже для всіх показників не перевищувала 8,2 %.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Гребняк М. П., д-р мед. наук, професор каф. загальної гігієни та екології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-7720-6758](https://orcid.org/0000-0002-7720-6758)

Кірсанова О. В., канд. мед. наук, доцент каф. загальної гігієни та екології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0001-5337-2439](https://orcid.org/0000-0001-5337-2439)

Таранов В. В., канд. мед. наук, доцент каф. соціальної медицини, громадського здоров'я, медичного та фармацевтичного права, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0003-0053-5550](https://orcid.org/0000-0003-0053-5550)

Мікрюкова Н. Г., старший викладач каф. організації вищої освіти, управління охороною здоров'я та гігієни, Донецький національний медичний університет, м. Маріуполь, Україна.  
ORCID ID: [0000-0003-1188-8140](https://orcid.org/0000-0003-1188-8140)

## Information about authors:

Hrebniak M. P., Dr.hab., Professor of the Department of General Hygiene and Ecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kirsanova O. V., PhD, Associate Professor of the Department of General Hygiene and Ecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Taranov V. V., PhD, Associate Professor of the Department of Social Medicine, Public Health, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Mikriukova N. H., Senior Lecturer, Department of Higher Education, Health and Hygiene Management, Donetsk National Medical University, Mariupol, Ukraine.

## Сведения об авторах:

Гребняк М. П., д-р мед. наук, профессор каф. общей гигиены и экологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кирсанова Е. В., канд. мед. наук, доцент каф. общей гигиены и экологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Таранов В. В., канд. мед. наук, доцент каф. социальной медицины, общественного здоровья, медицинского и фармацевтического права, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Микрюкова Н. Г., старший преподаватель каф. организации высшего образования, управления охраной здоровья и гигиены, Донецкий национальный медицинский университет, медицинский факультет № 3, г. Мариуполь, Украина.

## Список літератури

- Череватенко А. А. Экологические факторы риска для здоровья населения. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2018. № 3. С. 39-45.
- Заридзе Д. Г., Мукерия А. Ф., Шаньгина О. В. Взаимодействие факторов окружающей среды и генетического полиморфизма в этиологии злокачественных опухолей. *Успехи молекулярной онкологии*. 2016. Т. 3, № 2. С. 8-17.
- Гребняк М. П., Кірсанова О. В., Таранов В. В. Геопатогенні зони й онкологічна захворюваність населення. *Запорожський медичний журнал*. 2020. Т. 7, № 6. С. 811-815. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.6.218453>
- Соленова Л. Г. Современные подходы к оценке влияния загрязнения окружающей среды на онкологический риск. *Успехи молекулярной онкологии*. 2020. Т. 7, № 1. С. 17-22. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2020-7-1-17-22>
- Павленко Т. О. Рівні радону у повітрі будинків України. *Довкілля та здоров'я*. 2007. № 2. С. 22-25.



- [6] Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев : Мединформ, 2018. 579 с.
- [7] Алехин В. И., Шагрова А. А. Формы проявления разломных зон Приазовского геоблока УЩ в разновозрастных комплексах пород и рудоносность. *Наукові праці УкрНДМІ НАН України*. 2009. № 5, ч. 2. С. 305-315.
- [8] Геоэлектрoфизические аномалии Украинского щита и их связь с рудопроявлениями полезных ископаемых / Т. К. Бурахович, И. Ю. Николаев, Е. М. Шеремет, Е. И. Широков. *Геофизический журнал*. 2015. Т. 37. № 6. С. 42-63.
- [9] Рыбаков Ю. Л. Общее воздействие на организм слабого низкочастотного вихревого магнитного поля при развитии опухолевого процесса : автореф. дисс. ... д-ра биол. наук : 03.01.01 / Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. Москва, 2013. 46 с.
- [10] Радон в дошкільних закладах Запорізької області та дози опромінення дітей / Т. О. Павленко, М. І. Костянецький, А. В. Куцак та ін. *Довкілля та здоров'я*. 2013. № 1. С. 49-53.
- [11] Outdoor air pollution. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 109 / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans ; International Agency for Research on Cancer. 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK368024/>
- [12] Radiation. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 100D / IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans ; International Agency for Research on Cancer. 2012. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304362/>
- [13] Озерова Ю. Ю., Прилипко В. А. Соціальні ризики проживання поблизу діючих АЕС за результатами соціологічного дослідження. *Environment & health*. 2020. № 3. С. 40-47. <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.03.040>
- [14] Костенецький М. І., Севальнев А. І., Куцак А. В. Радон навколо нас: проблема та шляхи її вирішення. Запоріжжя : ЗДМУ, 2019. 162 с.
- [15] Проблема микроэлементозов у населения, подвергшегося сочетанному действию радиационного и эндемического факторов / В. Н. Корзун, Т. В. Болохнова, Т. И. Нестер, А. Н. Парац. *Здоровье и окружающая среда*. 2008. Вып. 12. С. 149-156.
- [16] Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms / K. M. Rodgers, J. O. Udesky, R. A. Rudel, J. G. Brody. *Environmental research*. 2018. Vol. 160. P. 152-182. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.045>
- [17] Савельева О. Н. Психосоматика онкологических заболеваний. *Вестник науки и образования*. 2015. № 9. С. 75-76.
- [18] Global cancer observatory: Cancer Today / Y. Ferlay, M. Ervik, F. Lam et al. Lyon : International Agency for Research on cancer, 2020. <https://gco.iarc.fr/today>
- [19] complexes and ore content]. *Naukovi pratsi UkrNDMI NAN Ukrainy*, (5, Pt 2), 305-315. [in Russian].
- [8] Burakhovich, T. K., Nikolaev, I. Yu., Sheremet, E. M., & Shirkov B. I. (2015). Geoelektricheskie anomalii Ukrainского shchita i ikh svyaz' s rudoproyavleniyami poleznykh iskopaemykh [Geoelectric anomalies of the Ukrainian shield and their relation to mineral deposits]. *Geofizicheskii zhurnal*, 37(6), 42-63. [in Russian].
- [9] Rybakov, Yu. L. (2013). *Obshchee vozdeistvie na organizm slabogo nizkochastotnogo vikhrevogo magnitnogo polya pri razvitiit opukholevogo protsessa* (Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk). [The general effect on the body of a weak low-frequency vortex magnetic field during the development of a tumor process] (Extended abstract of candidate's thesis). Moscow. [in Russian].
- [10] Pavlenko, T. A., Kostenetsky, M. I., Kutsak, A. V., Sevalnev, A. I., Ak-senov, N. V., & Fryziuk, M. A. (2013). Radon v doshkilnykh zakladakh Zaporizkoi oblasti ta dozy oprominennia ditei [Radon in preschool establishments in Zaporozhye region and doses of irradiation of children]. *Environment & health*, (1), 49-53. [in Ukrainian].
- [11] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2016). *Outdoor air pollution*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, (No. 109). International Agency for Research on Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK368024/>
- [12] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2012). *Radiation*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, (No. 100D). International Agency for Research on Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304362/>
- [13] Ozerova, Yu. Yu., & Prylypko, V. A. (2020). Sotsialni ryzyky prozhyvannia poblyzhu diiuchykh AES za rezultatamy sotsiolohichnoho doslidzhennia [Social risks of the residence next to existing NPP according to the results of a sociological survey]. *Environment & health*, (3), 40-47. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.03.040>
- [14] Kostenetskyi, M. I., Sevalniev, A. I., & Kutsak, A. V. (2019). *Radon navkolo nas: problema ta shliakhy yii vyirishennia* [Radon around us: the problem and ways to solve it]. Zaporizhzhia: ZDMU. [in Ukrainian].
- [15] Korzun, V. N., Bolokhnova, T. V., Nester, T. I., & Parats, A. N. (2008). Problema mikroelementozov u naseleniya, podvergshegosya sochetannomu deistviyu radiatsionnogo i endemicheskogo faktorov [The problem of microelementosis in the population exposed to the combined action of radiation and endemic factors]. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda*, 12, 149-156. [in Russian].
- [16] Rodgers, K. M., Udesky, J. O., Rudel, R. A., & Brody, J. G. (2018). Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environmental research*, 160, 152-182. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.045>
- [17] Savel'eva, O. N. (2015). Psikhosomatika onkologicheskikh zaboлевanii. Vestnik nauki i obrazovaniya [Psychosomatics of oncological diseases]. *Vestnik nauki i obrazovaniya*, (9), 75-76. [in Russian].
- [18] Ferlay J., Ervik M., Lam F., Colombet M., Mery L., Piñeros M., Znaor A., Soerjomataram I., & Bray F. (2020). *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>

## References

- [1] Cherevatenko, A. A. (2018). Ekologicheskie faktory riska dlya zdorov'ya naseleniya [Environmental risk factors for public health]. *Zhurnal fundamental'noi meditsiny i biologii*, (3), 39-45. [in Russian].
- [2] Zaridze, D. G., Mukeriya, A. F., & Shan'gina, O. V. (2016). Vzaimodeistvie faktorov okruzhayushchei sredy i geneticheskogo polimorfizma v etiologii zlokachestvennykh opukholei [Interaction of environmental factors and genetic polymorphism in the etiology of cancer]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 3(2), 8-17. [in Russian].
- [3] Hrebniak M. P., Kirsanova O. V., & Taranov V. V. (2020). Neopato-hennii zony y onkologichna zakhvoriuvanist naselennia [Geopathogenic zones and oncological morbidity of the population]. *Zaporozhye medical journal*, 22(6), 811-815. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.6.218453>
- [4] Solenova, L. G. (2020). Sovremennye podkhody k otsenke vliyaniya zagryazneniya okruzhayushchei sredy na onkologicheskii risk [Current approaches to assessment of the impact of the environmental contamination on cancer risk]. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii*, 7(1), 17-22. [in Russian]. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2020-7-1-17-22>
- [5] Pavlenko, T. O. (2007). Rivni radonu u povitri budynkiv Ukrainy [Radon levels in the air of Ukrainian houses]. *Dovkillia ta zdorovia*, (2), 22-25. [in Ukrainian].
- [6] Antomonov, M. Yu. (2018). *Matematicheskaya obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh* [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. Medinform. [in Russian].
- [7] Alekhin, V. I., & Shagrova, A. A. (2009). Formy proyavleniya razlomnykh zon Priazovskogo geobloka USHC v raznovozrastnykh kompleksakh porod i rudoznosnost' [Manifestation forms of fault zones in the Priazovsky geoblock of the Ukrainian Shield in mixed age rock



# Досвід, результати та можливі перспективи організації оптимально доступної первинної медичної допомоги сільському населенню Запорізької області

О. Г. Алексєєв<sup>ID</sup>A,F, В. В. Таранов<sup>ID</sup>E,F, В. П. Петрихін<sup>ID</sup>\*B,C,D

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Оцінювання діяльності вітчизняної системи охорони здоров'я – важливе та актуальне питання сьогодення, особливо на тлі активних процесів реформування цієї галузі. Один з її важливих елементів – вивчення доступності надання первинної медичної допомоги сільському населенню.

**Мета роботи** – аналіз територіальної доступності первинної медичної допомоги, адекватності й ефективності принципів формування мережі медичних закладів первинної ланки в сільських районах Запорізької області для розв'язання проблемних питань та оптимізації розміщення медичних установ первинної ланки у сільській місцевості.

**Матеріали та методи.** Матеріали для досліджень – відомості офіційної статистичної звітності за останні 20 років, що характеризують стан здоров'я та ступінь доступності медичної допомоги сільському населенню. Під час роботи застосували методіку комплексного соціально-гігієнічного дослідження з використанням історичного, соціологічного, санітарно-статистичного методів, організаційного експерименту тощо.

**Результати.** Наведено основні результати вивчення сучасного стану організації первинної медичної допомоги сільському населенню Запорізької області на тлі активних процесів реформування галузі. Виявили, що основними складовими елементами, які формують систему доступності, є територіальний, медичний, соціальний та економічний. Визначили основні чинники, що впливають на територіальну доступність. Це передусім характер розселення сільських жителів (густота, компактність, радіус обслуговування, питома вага сільського населення, відстань між селами, відстань від житла до медичного закладу), стан і якість доріг, транспортне сполучення між населеними пунктами та медичними закладами, наявність засобів зв'язку.

**Висновки.** Під час формування чи удосконалення мережі закладів охорони здоров'я в сільській місцевості важливе значення мають певні чинники, як-от густота населення, компактність його розміщення, радіус обслуговування, відстань між селами, від житла до медичного закладу, стан і якість доріг, транспортне сполучення між населеними пунктами і медичними закладами тощо. Ці фактори потрібно враховувати під час розв'язання питання щодо раціонального розміщення медичних установ первинної ланки в сільській місцевості.

**Ключові слова:** охорона здоров'я, реформування, первинна медична допомога, сільське населення, доступність послуг охорони здоров'я.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 369–373**

## The experience, results, and possible perspectives of organizing the optimally accessible primary medical care for the rural population of Zaporizhzhia region

O. H. Aleksieiev, V. V. Taranov, V. P. Petrykhin

Nowadays, the assessment of the activity of the domestic healthcare system is an important and actual issue, especially against the background the active reformation of this industry. One of the important elements of the assessment is studying the availability of primary healthcare to the rural population.

**The aim** of this work is to study the territorial accessibility of primary healthcare, the adequacy and effectiveness of the principles of forming a network of primary care facilities in the rural areas of Zaporizhzhia region that enables to address issues and optimize the location of primary care facilities in the rural areas.

**Materials and methods.** The materials of the research were the data of the official statistical reports for the past 20 years, which characterize the state of health and the degree of medical care accessibility to the rural population. During the research, the technique of complex social and hygienic research was applied, with the use of historical, sociological, sanitary and statistical methods, organizational experiment and others.

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/241818>

UDC 614.2:316.334.55](477.64)  
DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.241818](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.241818)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 369–373

**Key words:** health protection, reform, primary healthcare, rural population, availability of health services.

\*E-mail: [agagroup@ukr.net](mailto:agagroup@ukr.net)

Received: 27.08.2021 // Revised: 20.09.2021 // Accepted: 24.09.2021

**Results.** The article presents the main results of studying the current state of primary healthcare organization for the rural population of Zaporizhzhia region against the background of active reforming processes. According to the research results, the main elements forming the system of accessibility are territorial, medical, social and economic. The main factors of impact on territorial accessibility are identified. These are: the nature of the settlement of rural residents (density, compactness, service-area radius, the proportion of the rural population, the distance between villages, the distance from a household to a healthcare facility); quality of roads; transport connections between settlements and healthcare facilities; availability of communication means.

**Conclusions.** As a result of the research, the following conclusions were drawn. Such factors as population density, compactness of its location, service-area radius, distance between villages, distance from a household to a healthcare facility, condition and quality of roads, transport connections between settlements and healthcare facilities are important during forming or improving the network of healthcare facilities in rural areas. These factors must be considered for the rational placement of primary care facilities in rural areas.

**Key words:** health protection, reform, primary healthcare, rural population, availability of health services.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 369–373**

## Опыт, результаты и возможные перспективы организации оптимально доступной первичной медицинской помощи сельскому населению Запорожской области

А. Г. Алексеев, В. В. Таранов, В. П. Петрихин

Оценка деятельности отечественной системы здравоохранения – важный и актуальный вопрос, особенно на фоне активных процессов реформирования этой отрасли. Один из ее важных элементов – изучение доступности предоставления первичной медицинской помощи сельскому населению.

**Цель работы** – проведение анализа территориальной доступности первичной медицинской помощи, адекватности и эффективности принципов формирования сети медицинских учреждений первичного звена в сельских районах Запорожской области для решения проблемных вопросов и оптимизации размещения медицинских учреждений первичного звена в сельской местности.

**Материалы и методы.** Материалы для исследования – данные официальной статистической отчетности за последние 20 лет, характеризующие состояние здоровья и степень доступности медицинской помощи сельскому населению. В ходе работы применили методику комплексного социально-гигиенического исследования с использованием исторического, социологического, санитарно-статистического методов, организационного эксперимента и другие.

**Результаты.** Представлены основные результаты изучения современного состояния организации первичной медицинской помощи сельскому населению Запорожской области на фоне активных процессов реформирования отрасли. Установлено, что основными составляющими элементами, которые формируют систему доступности, являются территориальный, медицинский, социальный и экономический. Определены основные факторы, влияющие на территориальную доступность. Это прежде всего характер расселения сельских жителей (плотность, компактность, радиус обслуживания, удельный вес сельского населения, расстояние между селами, от жилья до медицинского заведения), состояние и качество дорог, транспортное сообщение между населёнными пунктами и медицинскими заведениями, наличие средств связи.

**Выводы.** При формировании или усовершенствовании сети заведений здравоохранения в сельской местности имеют значение такие факторы, как плотность населения, компактность его размещения, радиус обслуживания, расстояние между селами, от жилья до медицинского заведения, состояние и качество дорог, транспортное сообщение между населёнными пунктами и медицинскими заведениями и другие. Эти факторы нужно учитывать при решении вопросов рационального размещения медицинских учреждений первичного звена в сельской местности.

**Ключевые слова:** здравоохранение, реформирование, первичная медицинская помощь, сельское население, доступность услуг здравоохранения.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 369–373**

У процесі реформування галузі охорони здоров'я в Україні виникають питання, що стосуються організації медичної допомоги різним верствам населення. Одне з найбільш актуальних питань цього ряду – первинна медична допомога сільському населенню, що має бути якісною та доступною. Доступність допомоги жителям села, за даними сучасної фахової літератури, майже не досліджена. Більшість наукових робіт цього спрямування здійснювали доволі давно, ще до реформ, а отже їхні результати втратили актуальність. Для розв'язання цих питань потрібні нові підходи й нові дослідження.

### Мета роботи

Аналіз територіальної доступності первинної медичної допомоги, адекватності й ефективності принципів фор-

мування мережі медичних закладів первинної ланки в сільських районах Запорізької області для розв'язання проблемних питань та оптимізації розміщення медичних установ первинної ланки у сільській місцевості.

### Матеріали і методи дослідження

Матеріали для досліджень – відомості офіційної статистичної звітності за останні 20 років, що характеризують стан здоров'я та ступінь доступності медичної допомоги сільському населенню.

Під час роботи застосували методику комплексного соціально-гігієнічного дослідження з використанням історичного, соціологічного, санітарно-статистичного методів, організаційного експерименту тощо.

## Результати

Протягом останніх років у Запорізькій області активно реформується охорона здоров'я. Головна увага звернена на пошук шляхів удосконалення первинної медико-санітарної допомоги на засадах сімейної медицини в сільських районах. Це стосується передусім розвитку інфраструктури первинної ланки медичних закладів. До мережі закладів, що надають первинну медико-санітарну допомогу сільському населенню в Запорізькій області, належать дільничні лікарні та амбулаторії сімейного лікаря, фельдшерсько-акушерські та фельдшерські пункти. Ще з часів земської медицини такі заклади добре себе зарекомендували, довели свою життєздатність, і нині, на думку багатьох дослідників, не втратили свого значення в наданні первинної медико-санітарної допомоги жителям села.

З кожним роком зростає кількість амбулаторій сімейного лікаря, в яких почали працювати спеціалісти, підготовані за фахом, збільшується кількість осіб, які підписали декларації та почали лікування в сімейного лікаря, підвищується авторитет сімейного лікаря серед населення. Накопичено чималий досвід в організації первинної медичної допомоги за принципом загальної практики/сімейної медицини в сільській місцевості.

Однак певні питання залишаються невирішеними і на практичному, і на теоретичному рівні. Так, привертає увагу недостатня кількість наукових досліджень і публікацій щодо вивчення ефективності впровадження нових форм організації медичної допомоги у сфері охорони здоров'я, зокрема доступності цієї допомоги на селі.

У 1999 році кафедрою соціальної медицини та організації охорони здоров'я Запорізького державного медичного університету за участю обласного відділу охорони здоров'я виконана науково-дослідна робота з вивчення цих питань. За її результатами визначені основні складові поняття доступності [4], запропонована теоретично обґрунтована модель системи організації оптимально доступної медико-санітарної допомоги сільському населенню [2,3].

У результаті дослідження встановили: основними складовими елементами, що формують систему доступності, є територіальний, медичний, соціальний та економічний. Визначили основні чинники, що впливають на територіальну доступність: характер розселення сільських жителів (густота, компактність, радіус обслуговування, питома вага сільського населення, відстань між селами, від житла до медичного закладу), стан, якість доріг, транспортне сполучення між населеними пунктами та медичними закладами, наявність засобів зв'язку. Встановили, що територіальна доступність визначається можливостями населення отримувати медичну допомогу в повному обсязі за короткий термін часу в місцях постійного проживання [4].

Отже, теоретично обґрунтували визначення системи загалом та її елементів, технології управлінського впливу на них, необхідний склад виконавців і критерії оцінювання ефективності. Особливу увагу приділили раціональному

розміщенню медичних закладів у різних районах області, враховуючи наведені чинники.

Рекомендації, що надані обласним відділом охорони здоров'я, згодом були реалізовані в деяких районах Запорізької області.

Ефективність упровадження наведеної моделі вивчали під час соціологічного дослідження. У результаті опитування сільських жителів щодо задоволення населення медичним обслуговуванням у закладах охорони здоров'я за місцем проживання з'ясували: позитивно оцінили роботу 79,0 % респондентів, 16,4 % задоволені частково, 4,6 % осіб не задоволені [3].

З'ясували, що провідний фактор, який впливає на кількість звернень жителів віддалених сіл у лікувально-профілактичні установи, – відстань. Для оцінювання використали лінійний коефіцієнт кореляції. Встановили, що чим більша відстань медичного закладу від районного центру, тим менша кількість звернень жителів цих сіл у центральну районну лікарню ( $r = -0,77, p < 0,05$ ) [2].

Відзначимо, що у віддалених районах Запорізької області такі чинники, як густота і компактність розселення суттєво нижчі порівняно з районами, що розташовані ближче до міста. Так, наприклад, густота населення у Приазовському районі – 13,33 особи/км<sup>2</sup>, Приморському – 20,35 особи/км<sup>2</sup>, Токмацькому – 14,55 особи/км<sup>2</sup>, Якимівському – 17,37 особи/км<sup>2</sup>; у Запоріжжі цей показник становить 2211 осіб/км<sup>2</sup>.

Відомо, що чим нижча густота населення на одиницю території, тим більший радіус медичного обслуговування. Але цей факт зазвичай не враховують під час вибору місць розташування медичного закладу і визначення показника навантаження сільських лікарів. У містах, де велика густота населення, сімейний лікар обслуговує до 2000 осіб, а це, власне, мешканці двох-трьох багатоповерхових будинків. У сільській місцевості така сама кількість населення проживає на більшій території у двох-трьох селах на відстані 5–10 км, що збільшує складність та обсяг роботи медика. На нашу думку, ці факти, й зокрема показник густоти населення, треба враховувати, визначаючи навантаження лікарів у сільській місцевості.

## Обговорення

Реформа охорони здоров'я потребує впровадження нових форм організації медичного обслуговування населення, а також змін структури та кількості медичних закладів. Цей процес відбувається в Запорізькій області: скорочуються наявні, з'являються нові, добре оснащені медичні заклади. Так, у 2021 році в області заплановано відкрити або модернізувати 17 амбулаторій сімейної медицини.

Нині в Запорізькій області відбувається процес зміни адміністративно-територіального устрою. У зв'язку з цим в області ліквідовано 20 районів, натомість створено 5 районів (територіальних об'єднань) – Бердянський, Василівський, Запорізький, Мелітопольський і Пологівський. Ці зміни зумовлюють необхідність перегляду мережі закладів, що надають первинну медико-санітарну



допомогу сільському населенню, не тільки в аспекті адміністративного упорядкування, але й передусім щодо раціонального розміщення, зважаючи на доступність для населення.

У визначенні потреби в медичних закладах у сільських районах мають право і повинні брати участь органи місцевого самоврядування. Але найперше беруть до уваги здатність громади фінансувати ці заклади, що нині обмежена. У результаті спостерігаємо негативну тенденцію до скорочення дільничних лікарень, а це є порушенням чинного законодавства. Тому необхідно нагадати, що при внесенні змін до «Основ законодавства України про охорону здоров'я» від 7 липня 2011 р. № 3611-VI про удосконалення надання медичної допомоги, було зазначено: наявна мережа закладів не може бути скорочена. Втім, за даними офіційної статистичної звітності, за останні 20 років спостерігаємо чітку тенденцію до скорочення дільничних лікарень і збільшення сільських амбулаторій. Так, у 1980 році була 71 дільнична лікарня, у 1996 році – 61, у 2000 – 43, а у 2020 році залишилося 23; щодо сільських амбулаторій, то у 1980 році їх було 15, у 2000 – 70, у 2020 році функціонують уже 138 амбулаторій [2]. Дільничні лікарні, що залишилися, також планують реорганізувати в амбулаторії.

Отже, є підстави припустити, що такі зміни можуть призвести до обмеження доступності отримання амбулаторної та стаціонарної допомоги жителям сіл. Відомо, що в сільських районах у складі населення переважають особи похилого та старечого віку. Головна особливість захворюваності цих людей – переважно хронічні хвороби. Чимало сільських пенсіонерів живуть самотньо та потребують не тільки лікування, але й догляду (паліативна допомога). Протягом багатьох років цю допомогу успішно надавали дільничні лікарні. Але після реформування охорони здоров'я доля дільничних лікарень залишається або невизначеною, або вони будуть ліквідовані. На наше переконання, для забезпечення доступності стаціонарної медичної допомоги мешканцям сіл ці заклади треба обов'язково зберегти.

Медична доступність допомоги визначається можливостями населення своєчасно отримувати термінову, кваліфікаційну, спеціалізовану та консультативну допомогу в наявній мережі медичних закладів [4]. У Законі України про підвищення доступності та якості медичного обслуговування в сільській місцевості передбачено впровадження сучасних технологій із медичного обслуговування в сільській місцевості, зокрема з використанням телемедицини (телемедичне консультування, телемедичний консилиум, телеметрія та домашнє телеконсультування) [1]. Однак на шляху реалізації цього важливого проекту є перешкоди: неналежне інтернет-покриття, а інколи його взагалі немає, особливо у віддалених селах; брак необхідного технічного обладнання (комп'ютерної техніки) та уміння ним користуватися. Розв'язання цих питань потребує часу та чималого фінансування.

Соціальна доступність визначається можливостями держави гарантувати суспільству виконання конституційних прав людини та задоволенням самого населення

цим процесом [4]. Вивчаючи якість і доступність медичної допомоги, не можна не враховувати суб'єктивне оцінювання ступеня задоволеності жителів медичною допомогою. Для цього широко застосовують методи соціологічних досліджень (анкетного опитування та інтерв'ю). Система організації медичної допомоги, власне, і створена для задоволення відповідних потреб людей, тому їхня думка з цього питання надзвичайно цінна. Навіть нефаховий погляд споживача часто може виявити значущі для нього, але приховані від фахівця або несуттєві, на його думку, недоліки. Але останнім часом в області не здійснювали такі дослідження.

## Висновки

1. Під час формування або вдосконаленні мережі закладів охорони здоров'я в сільській місцевості мають значення певні чинники, як-от густота населення, компактність його розміщення, радіус обслуговування, відстань між селами, від житла до медичного закладу, стан і якість доріг, транспортне сполучення між населеними пунктами та медичними закладами тощо. Ці фактори потрібно враховувати під час розв'язання питання щодо раціонального розміщення медичних установ первинної ланки в сільській місцевості.

2. Порушені питання потребують додаткових наукових досліджень, зокрема соціологічних. Це дасть можливість враховувати й об'єктивну, і суб'єктивну складову якості та доступності первинної медичної допомоги сільському населенню.

3. Своєчасне розв'язання названих проблем допоможе вдосконалити дії щодо впровадження первинної медико-санітарної допомоги на засадах сімейної медицини, підвищити її якість та ефективність.

---

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

---

## Відомості про авторів:

Алексєєв О. Г., канд. фарм. наук, доцент, зав. каф. соціальної медицини, громадського здоров'я, медичного та фармацевтичного права, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0003-4947-4998](https://orcid.org/0000-0003-4947-4998)

Таранов В. В., канд. мед. наук, доцент каф. соціальної медицини, громадського здоров'я, медичного та фармацевтичного права, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0003-0053-5550](https://orcid.org/0000-0003-0053-5550)

Петрихін В. П., старший викладач каф. соціальної медицини, громадського здоров'я, медичного та фармацевтичного права, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
ORCID ID: [0000-0002-4649-569X](https://orcid.org/0000-0002-4649-569X)

## Information about authors:

Aleksieiev O. H., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Social Medicine, Public Health, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Taranov V. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Social Medicine, Public Health, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Petrykhin V. P., Senior Lecturer of the Department of Social Medicine, Public Health, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

#### Сведения об авторах:

Алексеев А. Г., канд. фарм. наук, доцент, зав. каф. социальной медицины, общественного здоровья, медицинского и фармацевтического права, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Таранов В. В., канд. мед. наук, доцент каф. социальной медицины, общественного здоровья, медицинского и фармацевтического права, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Петрихин В. П., старший преподаватель каф. социальной медицины, общественного здоровья, медицинского и фармацевтического права, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

---

#### Список літератури

- [1] Про підвищення доступності та якості медичного обслуговування у сільській місцевості: Закон України від 14.11.2017 №2206-VIII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2206-19#Text>
- [2] Дмитряков В. А., Петрихин В. П. Характеристика существующей сети и показатели деятельности медицинских учреждений Запорожской области. *Запорожский медицинский журнал*. 2000. № 2. С. 45-52.
- [3] Дмитряков В. А., Петрихин В. П. Роль социологического опроса населения в реформировании сельского здравоохранения. *Запорожский медицинский журнал*. 2001. № 5-6. С. 80-82.
- [4] Петрихин В. П. Теоретичне обґрунтування організації оптимально доступної медико-санітарної допомоги сільському населенню. *Охорона здоров'я України*. 2008. № 4. С. 88-91.

#### References

- [1] Verkhovna Rada of Ukraine. (2017, November 14). *Pro pidvyshchennia dostupnosti ta yakosti medychnoho obsluhovuvannia u silskii mistsevoosti* [On improving the availability and quality of medical care in rural areas (No. 2206-VIII)]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2206-19?lang=en#Text>
- [2] Dmitryakov, V. A., & Petrikhin, V. P. (2000). Kharakteristika sushchestvuyushchei seti i pokazateli deyatel'nosti meditsinskikh uchrezhdenii Zaporozhskoi oblasti [The role of a sociological survey of the population in the reform of rural health care]. *Zaporozhye medical journal*, (2), 45-52. [in Russian].
- [3] Dmitryakov, V. A., & Petrikhin, V. P. (2001). Rol' sotsiologicheskogo oprosa naseleniya v reformirovanii sel'skogo zdravookhraneniya [The role of a sociological survey of the population in the reform of rural health care]. *Zaporozhye medical journal*, (5-6), 80-82. [in Russian].
- [4] Petrykhin, V. P. (2008). Teoretychne obgruntuvannia orhanizatsii optimalno dostupnoi medyko-sanitarnoi dopomohy silskomu naselenniu [Theoretical substantiation of the organization of optimally accessible medical care to the rural population]. *Okhorona zdorovia Ukrainy*, (4), 88-91. [in Ukrainian].



# Динаміка показників загальної фізичної підготовленості в системі фізичної терапії спортсменок віком 11–13 років, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату

Е. Ю. Дорошенко<sup>\*1,D,E,F</sup>, А. А. Орлов<sup>2,C,F</sup>, О. Є. Черненко<sup>1,A,B,E</sup>, А. М. Гурєєва<sup>1,A,B,E</sup>, І. В. Шаповалова<sup>1,B,E</sup>, В. І. Глухих<sup>1,A,E</sup>, С. Г. Польський<sup>1,A,E</sup>, І. О. Сазанова<sup>1,A,E</sup>, М. М. Сиром'ятников<sup>1,A,E</sup>

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>Запорізький національний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – визначити динамічні характеристики показників загальної фізичної підготовленості важкоатлеток віком 11–13 років після травм опорно-рухового апарату у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії.

**Матеріали та методи.** Контингент дослідження – 45 спортсменок (вікова категорія – 11–13 років, кваліфікація – I, II, III юнацькі розряди) СДЮШОР «Спартак» із важкої атлетики Запорізької обласної ради, ДЮСШ «Колос» Кам'янсько-Дніпровського району Запорізької області, ДЮСШ Бердянської міської ради Запорізької області та Харківського обласного вищого училища фізичної культури і спорту, які спеціалізуються у важкій атлетиці. Пацієнтів після травм опорно-рухового апарату поділили на дві групи: основну (ОГ, n = 22) і контрольну (КГ, n = 23). Спортсменки контрольної групи отримували стандартну схему лікування (загально-прийнята для медичних закладів). Для пацієнток основної групи у відновлювальному та тренувальному періодах розробили та впровадили програму фізичної терапії з контролем показників загальної фізичної підготовленості.

Методи дослідження: аналіз наукової літератури і джерел інформації, що представлені в мережі Інтернет; клінічне спостереження, педагогічне тестування, методи математичної статистики.

**Результати.** Аналіз показників загальної фізичної підготовленості спортсменок 11–13 років основної та контрольної груп, які спеціалізуються у важкій атлетиці, протягом відновлювального та тренувального періодів дає підстави констатувати: спортсменки основної групи мають кращі показники зростання, а динамічні характеристики їхньої загальної фізичної підготовленості мають лінійний характер із постійною спрямованістю до поліпшення. За показниками тесту «біг 30 м, с» зафіксували такі показники зростання: спортсменки основної групи – -0,48, спортсменки контрольної групи – -0,29, різниця – -0,19. За показниками тесту «стрибок у довжину з місця, см» виявили такі показники зростання: спортсменки основної групи – +14, спортсменки контрольної групи – +5, різниця – +9. За результатами виконання тесту «згинання і розгинання рук в упорі лежачи, п» отримали показники: спортсменки основної групи – +4,44, спортсменки контрольної групи – +2,86, різниця – +1,58.

**Висновки.** Інтенсифікація тренувального процесу та форсування підготовки юних спортсменів у важкій атлетиці – провідні чинники, що призводять до травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату, мультисистемних патологій і розвитку патоморфозних явищ. Показники загальної фізичної підготовленості спортсменок 11–13 років, які спеціалізуються у важкій атлетиці, дають підстави констатувати, що спортсменки основної групи мають більшу різницю зростання показників, а тренд їхньої загальної фізичної підготовленості має лінійну спрямованість на покращення. Показники загальної фізичної підготовленості спортсменок контрольної групи мають нелінійний характер за результатами тестів «біг 30 м, с» і «стрибок у довжину з місця, см».

**Ключові слова:** фізична підготовленість, фізична терапія, важка атлетика, спортсменки, травма, опорно-руховий апарат.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 374–381**

## Dynamics of general physical fitness indicators in the system of physical therapy of 11–13-year-old women weightlifters after traumatic injuries of the musculoskeletal system

E. Yu. Doroshenko, A. A. Orlov, O. Ye. Chernenko, A. M. Hurieieva, I. V. Shapovalova, V. I. Hlukhykh, S. H. Polskyi, I. O. Sazanova, M. M. Syromiatnykov

**The aim of the work** to determine the dynamic characteristics of overall physical condition indicators in 11–13-year-old female weightlifters after injuries of the musculoskeletal system at the training stage of physical therapy.

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/234033>

UDC 796.88.015.8.071.2:616.7-001-036.8-085.83]-053.66-055.25  
DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.234033](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.234033)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 374–381

**Key words:** physical condition, physical therapy, weightlifting, female athletes, injuries, musculoskeletal system.

\*E-mail: [doroe@ukr.net](mailto:doroe@ukr.net)

Received: 09.04.2021 // Revised: 27.04.2021 // Accepted: 11.05.2021

**Materials and methods.** The experimental population comprised 45 female weightlifters (aged 11–13 years, qualification – I, II, III junior categories) from SCYSSOR “Spartak” of the Zaporizhzhia regional council, CYSS “Kolos” of Kamiansko-Dniprovskiyi district of Zaporizhzhia region, Berdiansk CYSS of Zaporizhzhia Region City Council, and students of Kharkiv Regional Higher School of Physical Culture and Sports majoring in weightlifting. Patients after musculoskeletal injuries were divided into two groups: main (MG, n = 22) and control (CG, n = 23). Patients of the control group underwent standard treatment (generally prescribed in medical establishments). For main group patients in the training period, the program of physical therapy has been developed and implemented, with the current control of overall physical condition indicators.

**Research methods.** Analysis of literature and sources of information presented on the Internet; clinical observations; pedagogical testing; methods of mathematical statistics.

**Results.** Analysis of overall physical condition indicators of athletes of 11–13-year-old weightlifters of the main and control groups during the recovery and training periods allows us to state that main group athletes have higher growth rates, and dynamic characteristics of their overall physical condition are linear with constant focus on improvement. According to the indicators of “running 30 m, s” test, the following growth indicators were recorded: main group athletes (-0.48), control group athletes (-0.29), the difference (-0.19). According to the indicators of “standing long jump, cm” test, the following growth indicators were recorded: main group athletes (+14), control group athletes (+5), difference (+9). According to the results of the test “flexion-extension of the arms in the supine position, n” the following indicators were obtained: main group athletes (+4.44), control group athletes (+2.86), difference (+1.58).

**Conclusions.** Intensification of the training process and forcing the training of junior athletes in weightlifting are the leading factors that result in injuries of the musculoskeletal system, multisystem pathologies and the development of pathomorphic phenomena. Indicators of overall physical condition of weightlifters aged 11–13 allow us to state that main group athletes have a higher difference in growth, and the tendency of their overall physical condition has a linear focus on improvement. Indicators of overall physical condition of control group athletes are nonlinear, according to “running 30 m, s” and “standing long jump, cm” the test results.

**Key words:** physical condition, physical therapy, weightlifting, female athletes, injuries, musculoskeletal system.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 374–381**

### **Динамика показателей общей физической подготовленности в системе физической терапии спортсменов в возрасте 11–13 лет, которые специализируются в тяжёлой атлетике, после травматических повреждений опорно-двигательного аппарата**

Э. Ю. Дорошенко, А. А. Орлов, Е. Е. Черненко, А. М. Гуреева, И. В. Шаповалова, В. И. Глухих, С. Г. Польской, И. А. Сазанова, М. Н. Сыромятников

**Цель работы** – определить динамические характеристики показателей общей физической подготовленности тяжелоатлетов в возрасте 11–13 лет после травм опорно-двигательного аппарата в восстановительном и тренировочном периодах физической терапии.

**Материалы и методы.** Контингент обследованных – 45 спортсменов (возрастная категория – 11–13 лет, квалификация – I, II, III юношеские разряды) СДЮШОР «Спартак» по тяжелой атлетике Запорожского областного совета, ДЮСШ «Колос» Каменско-Днепровского района Запорожской области, ДЮСШ Бердянского городского совета Запорожской области и Харьковского областного высшего училища физической культуры и спорта, специализирующихся в тяжелой атлетике. Пациентов после травм опорно-двигательного аппарата поделили на две группы: основную (ОГ, n = 22) и контрольную (КГ, n = 23). Спортсменки контрольной группы получали стандартную схему лечения (общепринятая для медицинских учреждений). Для пациенток основной группы в восстановительном и тренировочном периодах разработана и внедрена программа физической терапии с контролем показателей общей физической подготовленности.

Методы исследования: анализ научной литературы и источников информации, представленных в сети Интернет; клиническое наблюдение, педагогическое тестирование, методы математической статистики.

**Результаты.** Анализ общей физической подготовленности спортсменов 11–13 лет основной и контрольной групп, специализирующихся в тяжелой атлетике, в течение восстановительного и тренировочного периодов позволяет констатировать: спортсменки основной группы имеют более высокие показатели прироста, а динамические характеристики их общей физической подготовленности имеют линейный характер с постоянной направленностью к улучшению. По показателям теста «бег 30 м, с» зафиксированы такие показатели прироста: спортсменки основной группы – -0,48, спортсменки контрольной группы – -0,29, разница – -0,19. По показателям теста «прыжок в длину с места, см» установлены такие показатели прироста: спортсменки основной группы – +14, спортсменки контрольной группы – +5, разница – +9. По результатам выполнения теста «сгибание и разгибание рук в упоре лёжа, n» получили такие показатели: спортсменки основной группы – +4,44, спортсменки контрольной группы – +2,86, разница – +1,58.

**Выводы.** Интенсификация тренировочного процесса и форсирование подготовки юных спортсменов в тяжелой атлетике – ведущие факторы, которые приводят к травматическим повреждениям опорно-двигательного аппарата, мультисистемным патологиям и развитию патоморфозных явлений. Показатели общей физической подготовленности спортсменов 11–13 лет, специализирующихся в тяжелой атлетике, позволяют констатировать, что спортсменки основной группы имеют более высокую разницу прироста показателей, а тренд их общей физической подготовленности имеет линейную направленность на улучшение. Показатели общей физической подготовленности спортсменок контрольной группы имеют нелинейный характер по результатам тестов «бег 30 м, с» и «прыжок в длину с места, см».

**Ключевые слова:** физическая подготовленность, физическая терапия, тяжёлая атлетика, спортсменки, травмы, опорно-двигательный аппарат.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 374–381**



Сучасна важка атлетика характеризується високим рівнем спортивних досягнень і конкуренцією провідних важкоатлетичних шкіл на офіційних змаганнях національного та міжнародного рівнів. Такий стан речей призводить до інтенсифікації тренувального процесу та явищ, що пов'язані з форсуванням підготовки спортсменів на етапах попередньої та спеціалізованої базової підготовки у структурі багаторічного вдосконалення. Це зумовлює підвищення показників спортивного травматизму внаслідок перетренованості та невідповідності фізичних навантажень можливостям організму у віці 11–13 років. У переважній більшості випадків травматичні ушкодження стосуються опорно-рухового апарату спортсменів. Особливо актуальні ці питання для жіночої важкої атлетики внаслідок специфічних особливостей жіночого організму, що пов'язані з формуванням у дівчат віком 11–13 років оваріально-менструального циклу та специфічних функцій жіночого організму, зокрема репродуктивної.

Проблемним питанням щодо профілактики спортивного травматизму та фізичної терапії травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату спортсменів у силових видах спорту загалом і важкій атлетиці зокрема присвячені дослідження вітчизняних [3,6,8,9] і закордонних фахівців [1,2,13,16]. Епідеміологічним характеристикам структури і поширеності спортивного травматизму у різних видах спорту присвячені дослідження [4,20,21], що акцентують на особливостях травм і пошкоджень опорно-рухового апарату у спортсменів відповідно до диференціації за групами видів спорту (спортивні ігри, єдиноборства, циклічні, складнокоординаційні, силові тощо), статтю (чоловіки, жінки), рівнем кваліфікації (аматори, кваліфіковані спортсмени, професіонали, елітні атлети тощо).

Окремий напрям у фізичній терапії травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату у силових видах спорту – дослідження на офіційних міжнародних змаганнях, як-от Олімпійські ігри, чемпіонати Європи і світу, Кубки світу, що відбуваються на тлі психологічних стрес-факторів і потребують граничної мобілізації функціональних систем організму спортсменів в екстремальних умовах виконання максимальних фізичних навантажень [12,16,18].

Прикладним питанням присвячені дослідження, що стосуються локалізації травматичних ушкоджень на різних ділянках тіла спортсменів – верхніх або нижніх кінцівках, тулубі, шиї та голові [19,26]. У дослідженні [10] наведено показники спортивного травматизму у кваліфікованих спортсменів, які спеціалізуються у важкій атлетиці. Автори визначили типи та локалізацію травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату групи спортсменів протягом року: розтягнення м'язів – 251 випадок (44,8 % – загальна дисперсія), тендиніт – 135 (24,1 %), розтягнення зв'язок – 73 (13,0 %), судова – 34 (6,1 %), забій – 17 (3,0 %), синовіт – 10 (1,8 %), бурсит – 9 (1,6 %), інші – 8 (1,4 %), садно – 6 (1,1 %), перелом – 6 (1,1 %), підвивих – 5 (0,9 %), пошкодження нерва – 4 (0,7 %), розрив – 1 (0,2 %), струс – 1 (0,2 %).

Дискусійними залишаються питання щодо залежності отримання травм і надання медичної допомоги у спортсменів, які спеціалізуються у кросфіті та традиційній важкій атлетиці [17]. У дослідженні [23] показано, що тренування в кросфіті змінюють показники нейротрофічного фактора (Brain-derived neurotrophic factor) і рівень іризину (Fibronectin type III domain-containing protein 5) після виконання спеціалізованих тестів (Wingate Test of Anaerobic Power), що опосередковано поліпшує аеробно-анаеробні здатності та склад тіла чоловіків і жінок молодого віку, які активно займаються фізичними вправами.

Актуальними для наукових дискусій залишаються питання щодо порівняльного аналізу прояву ізольованої сили поперекового розгинання в пауерліфтерів-професіоналів, пауерліфтерів-аматорів і чоловіків, які тренуються в рекреаційному або кондиційному режимах [15]; визначення впливу тренувань зі збільшеним ексцентричним навантаженням на максимальну продуктивність і повторну електроміографічну активність кваліфікованих спортсменів-пауерліфтерів [22]; ефективності комбінованих тренувань у важкій атлетиці на результативність та якість рухових навичок спортсменів у віковій категорії молодші кадети (11–13 років) [24].

Основою профілактичних заходів для запобігання травматичним ушкодженням опорно-рухового апарату спортсменів у важкій атлетиці є передусім раціональна техніка виконання тренувальних і змагальних вправ, яка виключає перенапруження та оптимізує біомеханічну складову рухової діяльності кваліфікованих важкоатлетів. Рецидиви травматичних ушкоджень у комплексі з наявними інфекційними захворюваннями можуть спричинити розвиток мультисистемних патологій, патоморфозних явищ, а отже зумовлювати серйозніші та складніші травми.

Отже, незважаючи на увагу дослідників до порушеної проблематики, питання щодо фізичної терапії травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату важкоатлеток віком 11–13 років залишаються остаточно не вирішеними й актуальними. Це стосується і визначення динамічних показників загальної фізичної підготовленості у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії важкоатлеток, що, можливо, дасть змогу зменшити хронологічні межі відповідних періодів та оптимізувати підготовку спортсменок для початку повноцінного тренувального процесу і виступів в офіційних змаганнях.

## Мета роботи

Визначити динамічні характеристики показників загальної фізичної підготовленості важкоатлеток віком 11–13 років після травм опорно-рухового апарату у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії.

## Матеріали і методи дослідження

Контингент дослідження – 45 спортсменок (вікова категорія 11–13 років, кваліфікація – I, II, III юнацькі розряди) СДЮШОР «Спартак» з важкої атлетики Запорізької об-

ласної ради, ДЮСШ «Колос» Кам'янсько-Дніпровського району Запорізької області, ДЮСШ Бердянської міської ради Запорізької області та Харківського обласного вищого училища фізичної культури і спорту, які спеціалізуються у важкій атлетиці.

Пацієнтів після травм опорно-рухового апарату поділили на дві групи: основну (ОГ, n = 22) і контрольну (КГ, n = 23). Спортсменкам контрольної групи призначили стандартну схему лікування (загальноприйнята для медичних закладів). Для пацієнтів основної групи розробили та впровадили програму відновлювального та тренувального етапів фізичної терапії з контролем показників загальної фізичної підготовленості та індивідуалізацією фізичних навантажень відповідно до стану спортсменок.

Методи дослідження: аналіз фахової літератури й джерел інформації, що представлені в мережі Інтернет для вивчення стану питання та визначення ймовірних шляхів оптимізації; клінічні спостереження за процесом відновного лікування за загальноприйнятою (в медичних закладах) схемою лікування та за програмою з використанням спрямованих засобів фізичної терапії; педагогічне тестування загальної фізичної підготовленості: «біг 30 м, с», «стрибок у довжину з місця, см», «згинання і розгинання рук в упорі лежачи, п»; педагогічне тестування спеціальної фізичної підготовленості: «ривок штанги у пів присід», «підйом штанги на груди у пів присід», «підйом штанги на груди», «поштовх штанги зі стійок», «присід зі штангою на грудях», «присід зі штангою на плечах», «жим штанги з грудей стоячи»; методи математичної статистики: експериментальні дані опрацювали за допомогою статистичного пакета Microsoft Excel з розрахунком таких показників: середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ); помилка середнього арифметичного (S); t – критерій достовірності нормального розподілу для вибірок. Результати опрацювали, використавши програму SPSS version 12.0.

## Результати

У таблиці 1 наведено експериментальні показники щодо типів травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату спортсменок віком 11–13 років (молодші кадети), які спеціалізуються у важкій атлетиці.

Диференціація показників за типами травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату спортсменок віком 11–13 років (молодші кадети), які спеціалізуються у важкій атлетиці, дає підстави констатувати: основна та контрольна групи не мали вірогідних відмінностей. Аналіз даних таблиці 1 і результатів дослідження [10] показав, що є відмінності ієрархічної структури спортивного травматизму. Так, в атлетів різного віку та кваліфікації (не враховуючи чинники статевого диморфізму) спостерігають:

– вищі показники розтягнення м'язів або зв'язок (кваліфіковані важкоатлети – 57,8 %; молодші кадети – 21,21–23,52 %);

– більшу поширеність тендиніту (кваліфіковані важкоатлети – 24,1 %; молодші кадети – 14,70–15,16 %);

**Таблиця 1.** Типи травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату спортсменок віком 11–13 років, які спеціалізуються у важкій атлетиці, протягом річного макроциклу, n = 45

Типи травматичних ушкоджень	Групи			
	основна, n = 22		контрольна, n = 23	
	випадки, n	%	випадки, n	%
Розтягнення м'язів або зв'язок*	7	21,21	8	23,52
Розрив м'язів або зв'язок*	–	–	–	–
Бурсит	1	3,03	1	2,96
Синовіт	1	3,03	–	–
Тендиніт	5	15,16	5	14,7
Вивих або підвивих	4	12,12	3	8,82
Забій	4	12,12	6	17,64
Садно	7	21,21	5	14,7
Струси	–	–	–	–
Судоми	–	–	1	2,96
Переломи**	–	–	–	–
Комплексні пошкодження	4	12,12	5	14,7
Загалом	33	100	34	100

\*: крім комплексних ушкоджень; \*\*: крім складних переломів.

– нижчі показники садна (кваліфіковані важкоатлети – 1,1 %; молодші кадети – 14,70–21,21 %);

– нижчі показники забоїв (кваліфіковані важкоатлети – 3,0 %; молодші кадети 12,12–17,64 %).

Ці розбіжності зумовлені факторами, як-от кваліфікація спортсменів, статеий диморфізм, вікові характеристики. У комплексі це призводить до специфічної спрямованості тренувального процесу та, відповідно, наведених особливостей щодо типологічних характеристик спортивного травматизму. Внаслідок цієї специфіки визначають відмінності ієрархічної структури типології спортивного травматизму.

У таблиці 2, 3 наведені показники загальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років основної (n = 22) та контрольної (n = 23) груп, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії.

Порівняльний педагогічний аналіз показників загальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років основної та контрольної груп, які спеціалізуються у важкій атлетиці, протягом відновлювального та тренувального періодів дає підстави констатувати: спортсменки ОГ мають більшу різницю зростання показників, а динамічні характеристики їхньої загальної фізичної підготовленості мають лінійний характер із постійною спрямованістю до покращення.

За показниками тесту «біг 30 м, с» у спортсменок зафіксували такі показники, що характеризують динаміку зростання у відновлювальному та тренувальному періодах

**Таблиця 2.** Динамічні характеристики показників загальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років основної групи, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії ( $\chi \pm S$ ),  $n = 22$

Тести	Відновлювальний період		Тренувальний період		$\Delta$ ( $\Sigma$ )	Норматив*
	початок	закінчення	початок	закінчення		
Біг 30 м, с	6,20 ± 0,15	6,11 ± 0,17	5,96 ± 0,17	5,72 ± 0,12	-0,48	5,7–5,9 (III) 5,5–5,7 (II) 5,3–5,5 (I)
Стрибок у довжину з місця, см	153,0 ± 10,1	157,0 ± 11,2	162,0 ± 10,2	167,0 ± 10,7	+14,0	160–170 (III) 165–175 (II) 170–180 (I)
Згинання і розгинання рук в упорі лежачи, п	7,31 ± 1,70	7,88 ± 2,10	9,66 ± 3,30	11,75 ± 3,50	+4,44	8–10 (III) 10–12 (II) 12–14 (I)

\*: за даними [5,7]; III, II, I: нормативи третього, другого, першого юнацьких розрядів відповідно.

**Таблиця 3.** Динамічні характеристики показників загальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років контрольної групи, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії ( $\chi \pm S$ ),  $n = 23$

Тести	Відновлювальний період		Тренувальний період		$\Delta$ ( $\Sigma$ )	Норматив*
	початок	закінчення	початок	закінчення		
Біг 30 м, с	6,11 ± 0,11	6,15 ± 0,17	5,89 ± 0,15	5,82 ± 0,16	-0,29	5,7–5,9 (III) 5,5–5,7 (II) 5,3–5,5 (I)
Стрибок у довжину з місця, см	159,0 ± 10,8	162,0 ± 10,2	161,0 ± 10,2	164,0 ± 10,7	+5,0	160–170 (III) 165–175 (II) 170–180 (I)
Згинання і розгинання рук в упорі лежачи, п	6,93 ± 2,30	7,37 ± 2,30	8,44 ± 2,80	9,79 ± 2,70	+2,86	8–10 (III) 10–12 (II) 12–14 (I)

\*: за даними [5,7]; III, II, I: нормативи третього, другого, першого юнацьких розрядів відповідно.

**Таблиця 4.** Хронологічні показники відновлення та якісні характеристики спеціальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років основної та контрольної груп, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату наприкінці процесу фізичної терапії,  $n = 45$

Тести	Групи				Норматив*, % від max**
	основна ( $n = 22$ )		контрольна ( $n = 23$ )		
	результат, %	тривалість, п	результат, %	тривалість, п	
Ривок штанги у пів присід	85,4 ± 1,1	15,1 ± 1,0	85,7 ± 1,1	22,2 ± 1,1	84
Підйом штанги на груди у пів присід	86,3 ± 1,3	15,7 ± 1,3	86,6 ± 1,1	22,9 ± 1,5	85
Підйом штанги на груди	103,3 ± 1,3	15,7 ± 1,7	103,5 ± 1,4	22,1 ± 1,1	102
Поштовх штанги зі стійок	105,5 ± 1,5	16,1 ± 2,1	104,9 ± 0,8	22,1 ± 1,0	104
Присід зі штангою на грудях	111,8 ± 1,8	21,2 ± 1,1	110,9 ± 0,9	28,6 ± 1,6	110
Присід зі штангою на плечах	129,0 ± 2,0	21,1 ± 1,1	128,5 ± 1,5	28,1 ± 1,0	127
Жим штанги з грудей стоячи	56,4 ± 1,4	7,7 ± 1,6	55,9 ± 0,8	7,2 ± 1,1	55

\*: за даними [5,7]; \*\*: % від максимального змагального результату.

фізичної терапії: спортсменки ОГ – -0,48, КГ – -0,29, різниця показників – -0,19. За показниками тесту «стрибок у довжину з місця, см» у спортсменок встановили такі динамічні показники, що характеризують їхнє зростання (або зниження) у відновлювальному та тренувальному періодах фізичної терапії: спортсменки ОГ – +14, КГ – +5,

різниця показників – +9. У результаті виконання третьої тестової вправи – «згинання і розгинання рук в упорі лежачи, п» отримали показники: спортсменки ОГ – +4,44, КГ – +2,86, різниця показників – +1,58.

Динамічні характеристики показників загальної фізичної підготовленості спортсменок КГ мають нелінійний

характер: тест «біг 30 м, с», показники на початку та наприкінці відновлювального періоду; тест «стрибок у довжину з місця, см», показники наприкінці відновлювального періоду та початку тренувального періоду.

У таблиці 4 наведено показники виконання тестів зі спеціальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років, які спеціалізуються у важкій атлетиці. Педагогічне тестування показників спеціальної фізичної підготовленості виконали для визначення якості та хронологічних характеристик процесу фізичної терапії.

Порівняльний педагогічний аналіз показників спеціальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років основної та контрольної груп, які спеціалізуються у важкій атлетиці, наприкінці фізичної терапії дає підстави стверджувати: внаслідок застосування експериментальної програми фізичної терапії спортсменки ОГ швидше досягали нормативних критеріїв, що наведені в роботах [5,7]. Протягом клінічних спостережень виявили: найтривалішим за хронологічними показниками є досягнення нормативних значень показників спеціальної фізичної підготовленості в тестах «присід зі штангою на грудях» і «присід зі штангою на плечах», що є найскладнішими в аспекті адаптації опорно-рухового апарату до максимальних і субмаксимальних фізичних навантажень.

## Обговорення

Раціональна техніка виконання змагальних вправ у важкій атлетиці в поєднанні з її індивідуалізацією дає змогу мінімізувати виникнення мультисистемних патологій у суглобах. Необхідно контролювати та не допускати зміщення ваги біомеханічної ланки за центр мас суглоба. Важливим є розвиток високого рівня силових проявів м'язів живота та м'язів, що розгинають хребет [11,14].

Адаптація опорно-рухового апарату спортсменок, які спеціалізуються у важкій атлетиці, під час фізичних навантажень відбувається набагато швидше, ніж пристосування брадитрофічних структур суглобів (хрящі, сухожилля, зв'язки). Спеціальні методичні принципи спортивного тренування потребують повільного, поступового збільшення інтенсивності фізичних навантажень протягом річного макроциклу, що мінімізує імовірність виникнення мультисистемних патологій і патоморфозних явищ в опорно-руховому апараті спортсменок, які займаються силовими видами спорту (важкою атлетикою, пауерліфтингом тощо) [5,27].

Дослідники виявили, що обмеження гнучкості спостерігають у представників силових видів спорту внаслідок односторонньої м'язової гіпертрофії (обмеження довільних рухів у суглобах: згинання та розгинання ліктьових суглобів, обертання та згинання тазостегнових суглобів, а також згинання колінних суглобів). Ці явища зазвичай супроводжуються спеціалізованими тренуваннями із застосуванням вправ стретчингу, пліометричних вправ, а також заняттями видами спорту, які суттєво поліпшують гемодинамічні характеристики організму, показники функцій серцево-судинної системи та системи енергозабезпечення [7,25]. Це – захід профілактики спортивного травматизму, а

також ефективний засіб у програмах фізичної терапії у процесі відновного лікування після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату спортсменок-важкоатлеток.

## Висновки

1. Інтенсифікація тренувального процесу в сучасній важкій атлетиці та форсування підготовки юних спортсменів для досягнення високих результатів на етапах попередньої та спеціалізованої базової підготовки – провідні чинники, що призводять до травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату та розвитку надалі мультисистемних патологій і патоморфозних явищ.

2. Показники загальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років, які спеціалізуються у важкій атлетиці, дають підстави констатувати: спортсменки ОГ мають більшу різницю зростання показників, а тренд їхньої загальної фізичної підготовленості має лінійну спрямованість на поліпшення. Показники загальної фізичної підготовленості спортсменок КГ мають нелінійний характер за результатами тестів «біг 30 м, с» і «стрибок у довжину з місця, см».

3. Показники спеціальної фізичної підготовленості спортсменок віком 11–13 років ОГ і КГ, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після завершення програм фізичної терапії дають змогу стверджувати: спортсменки ОГ швидше досягали нормативних критеріїв. Протягом клінічних спостережень виявлено, що найтривалішим є досягнення нормативних значень показників спеціальної фізичної підготовленості в тестах «присід зі штангою на грудях» і «присід зі штангою на плечах», які є найбільш енерговитратними.

**Перспективи подальших досліджень** передбачають визначення провідних чинників і маркерів ефективності програм фізичної терапії спортсменок, які спеціалізуються у важкій атлетиці, після травматичних ушкоджень опорно-рухового апарату з наступною диференціацією за віковими, статевими та кваліфікаційними ознаками.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## Відомості про авторів:

Дорошенко Е. Ю., д-р наук з фізичного виховання та спорту, професор каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Орлов А. А., старший викладач каф. теорії та методики фізичної культури і спорту, Запорізький національний університет, Україна.  
Черненко О. Є., канд. наук з фізичного виховання та спорту, доцент каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Гуреева А. М., канд. наук з фізичного виховання та спорту, доцент каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Шаповалова І. В., канд. пед. наук, доцент каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Глухих В. І., старша викладачка каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.



Польський С. Г., старший викладач каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сазанова І. О., старша викладачка каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сиром'ятников М. М., старший викладач каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.

#### Information about authors:

Doroshenko E. Yu., PhD, DSc, Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Orlov A. A., Senior Lecturer, Department of Theory and Methods of Physical Culture and Sports, Zaporizhzhia National University, Ukraine.

Chernenko O. Ye., PhD, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Hurieieva A. M., PhD, Associate Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Shapovalova I. V., PhD, Associate Professor of the Department Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Hlukhykh V. I., Senior Lecturer of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Polskyi S. H., Senior Lecturer of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Sazanova I. O., Senior Lecturer of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Syromiatnykov M. M., Senior Lecturer of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

#### Сведения об авторах:

Дорошенко Э. Ю., д-р наук по физическому воспитанию и спорту, профессор каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Орлов А. А., старший преподаватель каф. теории и методики физической культуры и спорта, Запорожский национальный университет, Украина.

Черненко Е. Е., канд. наук по физическому воспитанию и спорту, доцент каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гуреева А. М., канд. наук по физическому воспитанию и спорту, доцент каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шаповалова И. В., канд. пед. наук, доцент каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Глухих В. И., старший преподаватель каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Польской С. Г., старший преподаватель каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Сазанова И. А., старший преподаватель каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Сыром'ятников М. Н., старший преподаватель каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### Список литературы

- [1] Влияние вида спорта и возраста спортсменов на особенности патологических изменений опорно-двигательного аппарата / Е. Е. Ачкасов, С. Н. Пузин, А. С. Литвиненко и др. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2014. Т. 69, № 11-12. С. 80-83. <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i11-12.1187>
- [2] Вдовина Л. Н., Волкова И. В. Профилактика спортивного травматизма в тяжелой атлетике. *Территория науки*. 2016. № 3. С. 21-24.
- [3] Дорошенко В. В., Дорошенко І. Е. Профілактика дорсалгій у пауерліфтерів засобами фізичної реабілітації в умовах спортивного клубу. *Вісник Запорізького національного університету: Фізичне виховання та спорт*. 2017. № 2. С. 35-42.
- [4] Мазур А. И. Эпидемиология спортивного травматизма в аспекте медицинской реабилитации. *Проблемы общественного здоровья и реформирование здравоохранения*. 2012. № 11. С. 46-50.
- [5] Олешко В. Г., Лобко Б. М., Ткаченко К. В. Важка атлетика: [навчальна програма для дитячо-юнацьких спортивних шкіл, спеціалізованих дитячо-юнацьких спортивних шкіл олімпійського резерву, шкіл вищої спортивної майстерності та спеціалізованих навчальних закладів спортивного профілю]. Київ : ФВАУ, 2018. 91 с.
- [6] Орлов А. Зміст теоретичної та технічної підготовки важкоатлеток 12-13 років на попередньому базовому етапі підготовки. *Вісник Запорізького національного університету: Фізичне виховання та спорт*. 2017. № 1: 250-256.
- [7] Про внесення змін у додатки до Кваліфікаційних норм та вимог Єдиної спортивної класифікації України з олімпійських видів спорту : Наказ Міністерства спорту від 19.09.2018 № 4326. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1146-18#Text>
- [8] Сінянська Т., Арешина Ю. Б., Копитіна Я. М. Вплив фізичної терапії на функціональний стан суглобів спортсменів-важкоатлетів. *Проблеми здоров'я, фізичної терапії, реабілітації та ерготерапії* : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції. Суми, 2018. С. 139-143.
- [9] Тимочко О. І. Зміцнення здоров'я та формування потреби у здоровому способі життя школярів засобами важкої атлетики. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: «Педагогіка. Соціальна робота»*. 2018. № 1. С. 234-237.
- [10] Травмы в тяжелой атлетике // *Сайт «Спортивная медицина*. 2006-2021. URL : <https://www.sportmedicine.ru/weightlifting.php>
- [11] Ткалич І. В., Черепок А. А. Спортивная травматология : [учебное пособие]. Запорожье : ЗГМУ, 2014. 160 с.
- [12] Ясюкевич А. С., Гулевич Н. П., Муха П. Г. Анализ уровня и структуры случаев травматизма в тяжелой атлетике. *Прикладная спортивная наука*. 2016. № 1. С. 89-99.
- [13] Injuries among weightlifters and powerlifters: a systematic review / U. Aasa, I. Svartholm, F. Andersson, L. Berglund. *British journal of sports medicine*, 2017. Vol. 51, Iss. 4. P. 211-219. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-096037>
- [14] Alabbad M. A., Muaidi Q. I. Incidence and prevalence of weight lifting injuries: An update. *Saudi Journal of Sports Medicine*. 2016. Vol. 16, Iss. 1. P. 15-19. <https://www.sjasm.org/text.asp?2016/16/1/15/173476>
- [15] Comparison of Isolated Lumbar Extension Strength in Competitive and Noncompetitive Powerlifters, and Recreationally Trained Men / P. Androulakis-Korakakis, P. Gentil, J. P. Fisher, J. Steele. *Journal of strength and conditioning research*. 2021. Vol. 35, Iss. 3. P. 652-658. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002722>
- [16] Aune K. T., Powers J. M. Injuries in an Extreme Conditioning Program. *Sports health*. 2017. Vol. 9, Iss. 1. P. 52-58. <https://doi.org/10.1177/1941738116674895>
- [17] Likelihood of Injury and Medical Care Between CrossFit and Traditional Weightlifting Participants / J. L. Elkin, J. S. Kammerman, A. R. Kunselman, R. A. Gallo. *Orthopaedic journal of sports medicine*. 2019. Vol. 7, Iss. 5. P. 2325967119843348. <https://doi.org/10.1177/2325967119843348>
- [18] Sports injuries and illnesses during the London Summer Olympic Games 2012 / L. Engebretsen, T. Soligard, K. Steffen et al. *British journal of sports medicine*. 2013. Vol. 47, Iss. 7. P. 407-414. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2013-092380>
- [19] Upper extremity weightlifting injuries: Diagnosis and management / K. Golshani, M. E. Cinque, P. O'Halloran et al. *Journal of orthopaedics*. 2017. Vol. 15, Iss. 1. P. 24-27. <https://doi.org/10.1016/j.jor.2017.11.005>
- [20] Injury patterns in Swedish elite athletics: annual incidence, injury types and risk factors / J. Jacobsson, T. Timpka, J. Kowalski et al. *British journal of sports medicine*. 2013. Vol. 47, Iss. 15. P. 941-952. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2012-091651>
- [21] Keogh J. W., Winwood P. W. The Epidemiology of Injuries Across the Weight-Training Sports. *Sports medicine*. 2017. Vol. 47, Iss. 3. P. 479-501. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0575-0>

- [22] Effects of Augmented Eccentric Load Bench Press Training on One Repetition Maximum Performance and Electromyographic Activity in Trained Powerlifters / S. Montalvo, L. D. Gruber, M. P. Gonzalez et al. *Journal of strength and conditioning research*. 2021. Vol. 35, Iss. 6. P. 1512-1519. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000004030>
- [23] Murawska-Cialowicz E., Wojna J., Zuwała-Jagiello J. Crossfit training changes brain-derived neurotrophic factor and irisin levels at rest, after wingate and progressive tests, and improves aerobic capacity and body composition of young physically active men and women. *Journal of physiology and pharmacology*. 2015. Vol. 66, Iss. 6. P. 811-821.
- [24] Effects of Combined Resistance Training and Weightlifting on Motor Skill Performance of Adolescent Male Athletes / A. W. Pichardo, J. L. Oliver, C. B. Harrison et al. *Journal of strength and conditioning research*. 2019. Vol. 33, Iss. 12. P. 3226-3235. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003108>
- [25] Soriano M. A., Suchomel T. J., Marín, P. J. The Optimal Load for Maximal Power Production During Upper-Body Resistance Exercises: A Meta-Analysis. *Sports medicine*. 2017. Vol. 47, Iss. 4. P. 757-768. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0626-6>
- [26] Shoulder Injuries in Individuals Who Participate in CrossFit Training / R. J. Summitt, R. A. Cotton, A. C. Kays, E. J. Slaven. *Sports health*. 2016. Vol. 8, Iss. 6. P. 541-546. <https://doi.org/10.1177/1941738116666073>
- [27] Comparing the Effectiveness of a Short-Term Vertical Jump vs. Weightlifting Program on Athletic Power Development / S. Y. Teo, M. J. Newton, R. U. Newton et al. *Journal of strength and conditioning research*. 2016. Vol. 30, Iss. 10. P. 2741-2748. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001379>
- References**
- [1] Achkasov, E. E., Puzin, S. N., Litvinenko, A. S., Kurshev, V. V., & Bezuglov, E. N. (2014). Vliyanie vida sporta i vozrasta sportsmenov na osobennosti patologicheskikh izmenenii oporno-dvigatel'nogo apparata [The Effect of Different Types of Sports and Athletes' age on the Pathological Changes of the Musculoskeletal System]. *Vestnik Rossijskoi akademii meditsinskikh nauk*, 69(11-12), 80-83. [in Russian]. <https://doi.org/10.15690/vramn.v69i11-12.1187>
- [2] Vdovina, L. N., & Volkova, I. V. (2016). Profilaktika sportivnogo travmatizma v tyazheloi atletike. [Prevention of sports injuries in weightlifting]. *Territoriya nauki*, (3), 21-24. [in Russian].
- [3] Doroshenko, V. V., & Doroshenko, I. E. (2017). Profilaktyka dorsalnii u pauerlifteriv zasobamy fizychnoi reabilitatsii v umovakh sportyvnoho klubu [Prevention of dorsalgia in powerlifters by physical rehabilitation in the sport club conditions]. *Visnyk Zaporizkoho natsionalnoho universytetu: Fizychnye vykhovannia ta sport*, (2), 35-42. [in Ukrainian].
- [4] Mazur A. I. (2012). Epidemiologiya sportivnogo travmatizma v aspekte meditsinskoj reabilitatsii [Epidemiology of sports injuries in the aspect of the medical rehabilitation]. *Problemy obshchestvennogo zdorov'ya i reformirovanie zdravookhraneniya*, (11), 46-50. [in Russian].
- [5] Oleshko, V. H., Lobko, B. M., & Tkachenko, K. V. (2018). *Vazhka atletyka*: navchalna prohrama dlia dytiachy-yunatskykh sportyvnykh shkil, spetsializovanykh dytiachy-yunatskykh sportyvnykh shkil olimpijskoho rezervu, shkil vyshchoi sportyvnoi maisternosti ta spetsializovanykh navchalnykh zakladiv sportyvnoho profilu [Weightlifting: curriculum for children's and youth sports schools, specialized children's and youth sports schools of the Olympic reserve, schools of higher sportsmanship and specialized sports schools]. Kyiv: FVAU. [in Ukrainian].
- [6] Orlov A. (2017). Zmist teoretychnoi ta tekhnichnoi pidhotovky vazhkoatletok 12-13 rokov na poperednomu bazovomu etapi pidhotovky [Content of the theoretical and technical training weightlifters 12-13 years at the preliminary stage of basic training]. *Visnyk Zaporizkoho natsionalnoho universytetu. Fizychnye vykhovannia ta sport*, (1), 250-256. [in Ukrainian].
- [7] Ministry of Youth and Sports of Ukraine. (2018, September 19). *Pro vnesennia zmin u dodatky do Kvalifikatsiinykh norm ta vymoh Yedynoi sportyvnoi klasyfikatsii Ukrainy z olimpijskykh vydiv sportu*. Nakaz Minmolodsportu vid 19.09.2018 No. 4326 [On amendments to the appendices to the Qualification Standards and Requirements of the Unified Sports Classification of Ukraine in Olympic Sports (No. 4326)]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1146-18#Text>
- [8] Sinyanska, T., Areshina, Ju. B., & Kopytina, Ya. M. (2018). Vplyv fizychnoi terapii na funktsionalnyi stan suhlobov sportsmeniv-vazhkoatletiv [The physical therapy influence on the functional state of athletes-weightlifters' joints]. *Problemy zdorovia, fizychnoi terapii, reabilitatsii ta erhoterapii*. Proceedings of the All-Ukrainian scientific-practical conference (pp. 139-143). Sumy. [in Ukrainian].
- [9] Tymochko O. I. (2018). Zmitsnennia zdorovia ta formuvannia potreby u zdorovomu sposobi zhyttia shkolariv zasobamy vazhkoj atletyky [Promoting health and creating a need for a healthy lifestyle for schoolchildren through weightlifting]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu*. Seria: "Pedahohika. Sotsialna robota", (1), 234-237. [in Ukrainian].
- [10] (n.d.). Travmy v tyazheloi atletike [Weightlifting Injuries]. *Sportivnaya meditsina*. site. [in Russian]. <https://www.sportmedicine.ru/weightlifting.php>
- [11] Tkalic, I. V., & Cherepok, A. A. (2014). *Sportivnaya travmatologiya* [Sports traumatology]. Zaporozhye: ZGMU. [in Russian].
- [12] Yasyukevich, A. S., Gulevich, N. P., & Mukha, P. G. (2016). Analiz urovnya i struktury sluchayev travmatizma v tyazheloi atletike [The analysis of degree and structure of examples of sports traumatism in various sports]. *Prikladnaya sportivnaya nauka*, (1), 89-99. [in Russian].
- [13] Aasa, U., Svartholm, I., Andersson, F., & Berglund, L. (2017). Injuries among weightlifters and powerlifters: a systematic review. *British journal of sports medicine*, 51(4), 211-219. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-096037>
- [14] Alabbad, M. A., & Muaidi, Q. I. (2016). Incidence and prevalence of weightlifting injuries: An update. *Saudi Journal of Sports Medicine*, 16(1), 15-19. <https://www.sjosm.org/text.asp?2016/16/1/15/173476>
- [15] Androulakis-Korakakis, P., Gentil, P., Fisher, J. P., & Steele, J. (2021). Comparison of Isolated Lumbar Extension Strength in Competitive and Noncompetitive Powerlifters, and Recreationally Trained Men. *Journal of strength and conditioning research*, 35(3), 652-658. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002722>
- [16] Aune, K. T., & Powers, J. M. (2017). Injuries in an Extreme Conditioning Program. *Sports health*, 9(1), 52-58. <https://doi.org/10.1177/1941738116674895>
- [17] Elkin, J. L., Kammerman, J. S., Kunselman, A. R., & Gallo, R. A. (2019). Likelihood of Injury and Medical Care Between CrossFit and Traditional Weightlifting Participants. *Orthopaedic journal of sports medicine*, 7(5), 2325967119843348. <https://doi.org/10.1177/2325967119843348>
- [18] Engebretsen, L., Soligard, T., Steffen, K., Alonso, J. M., Aubry, M., Budgett, R., Dvorak, J., Jegathesan, M., Meeuwisse, W. H., Mountjoy, M., Palmer-Green, D., Vanhegan, I., & Renström, P. A. (2013). Sports injuries and illnesses during the London Summer Olympic Games 2012. *British journal of sports medicine*, 47(7), 407-414. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2013-092380>
- [19] Golshani, K., Cinque, M. E., O'Halloran, P., Softness, K., Keeling, L., & Macdonell, J. R. (2017). Upper extremity weightlifting injuries: Diagnosis and management. *Journal of orthopaedics*, 15(1), 24-27. <https://doi.org/10.1016/j.jor.2017.11.005>
- [20] Jacobsson, J., Timpka, T., Kowalski, J., Nilsson, S., Ekberg, J., Dahlström, Ö., & Renström, P. A. (2013). Injury patterns in Swedish elite athletics: annual incidence, injury types and risk factors. *British journal of sports medicine*, 47(15), 941-952. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2012-091651>
- [21] Keogh, J. W., & Winwood, P. W. (2017). The Epidemiology of Injuries Across the Weight-Training Sports. *Sports medicine*, 47(3), 479-501. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0575-0>
- [22] Montalvo, S., Gruber, L. D., Gonzalez, M. P., Dietze-Hermosa, M. S., & Dorigo, S. (2021). Effects of Augmented Eccentric Load Bench Press Training on One Repetition Maximum Performance and Electromyographic Activity in Trained Powerlifters. *Journal of strength and conditioning research*, 35(6), 1512-1519. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000004030>
- [23] Murawska-Cialowicz, E., Wojna, J., & Zuwała-Jagiello, J. (2015). Crossfit training changes brain-derived neurotrophic factor and irisin levels at rest, after wingate and progressive tests, and improves aerobic capacity and body composition of young physically active men and women. *Journal of physiology and pharmacology*, 66(6), 811-821.
- [24] Pichardo, A. W., Oliver, J. L., Harrison, C. B., Maulder, P. S., Lloyd, R. S., & Kandoi, R. (2019). Effects of Combined Resistance Training and Weightlifting on Motor Skill Performance of Adolescent Male Athletes. *Journal of strength and conditioning research*, 33(12), 3226-3235. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003108>
- [25] Soriano, M. A., Suchomel, T. J., & Marín, P. J. (2017). The Optimal Load for Maximal Power Production During Upper-Body Resistance Exercises: A Meta-Analysis. *Sports medicine*, 47(4), 757-768. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0626-6>
- [26] Summitt, R. J., Cotton, R. A., Kays, A. C., & Slaven, E. J. (2016). Shoulder Injuries in Individuals Who Participate in CrossFit Training. *Sports health*, 8(6), 541-546. <https://doi.org/10.1177/1941738116666073>
- [27] Teo, S. Y., Newton, M. J., Newton, R. U., Dempsey, A. R., & Fairchild, T. J. (2016). Comparing the Effectiveness of a Short-Term Vertical Jump vs. Weightlifting Program on Athletic Power Development. *Journal of strength and conditioning research*, 30(10), 2741-2748. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001379>



# Means of occupational therapy in (individual) rehabilitation programs for people with Parkinson's disease

O. I. Antonova<sup>ID</sup>A,D,E, S. O. Sorokina<sup>ID</sup>\*B,D

Kremenchuk Mykhailo Ostrogradskyi National University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**The aim** of the work is to develop a set of rehabilitation measures including occupational therapy classes for Parkinson's disease and to assess the objective condition of patients on the scales of non-motor symptoms, cognitive and mental disorders.

**Materials and methods.** The study of patients was conducted on the basis of anamnesis, objective examination and scales for assessment of non-motor symptoms, cognitive and mental disorders (scale of non-motor symptoms – NMSS, scale of mental disorders – MMSE, Montreal scale of cognitive disorders – MOCA); to assess non-motor symptoms, a patient questionnaire was additionally used to identify autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998). The control and experimental groups were offered exercise, physiotherapy, massage and nutrition (diet). Occupational therapy was added for the experimental group.

**Results.** After the physical rehabilitation, the condition of the patients significantly improved. The final score in the experimental group of patients with non-motor manifestations of Parkinson's disease on the scale of assessment of non-motor symptoms was statistically significantly lower and was  $61.04 \pm 0.39$  ( $P < 0.01$ ). The final score on the scale of mental disorders was statistically significantly higher –  $27.78 \pm 0.27$  ( $P < 0.01$ ), on the scale of cognitive changes, it also became statistically significantly higher –  $25.13 \pm 0.19$  ( $P < 0.01$ ). According to A. M. Wayne's questionnaire of autonomic disorders, the total score in the control group was  $64.0 \pm 3.2$ . In the experimental group of patients, the total score was  $51.0 \pm 5.4$  points ( $P < 0.01$ ). Thus, under the influence of additional occupational therapy classes, in the experimental group both on the scale of non-motor symptoms and by A. M. Wayne's, questionnaire there was a statistically significant improvement in the condition of patients.

**Conclusions.** Based on the results of the study, it can be concluded that there is a significant difference ( $P < 0.01$ ) in the condition of patients on the final scores, with the pronounced improvement in the condition of the experimental group patients in comparison with the control group patients, following the results of all survey scales. A significant difference is observed on the scale of non-motor symptoms. A certain role in improving the condition of patients with appropriate screening using study scales and a patient questionnaire to identify autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998), apparently played a component of the rehabilitation program, which further included occupational therapy classes.

**Key words:** Parkinson's disease, rehabilitation, occupational therapy, non-motor symptoms, cognitive and mental disorders.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 382–389**

## Застосування ерготерапії у програмі фізичної реабілітації пацієнтів із хворобою Паркінсона

О. І. Антонова, С. О. Сорокіна

**Мета роботи** – розробити комплекс реабілітаційних заходів із включенням занять з ерготерапії при хворобі Паркінсона й оцінити об'єктивний стан пацієнтів за шкалами немоторних симптомів, когнітивних і ментальних порушень.

**Матеріали та методи.** Стан хворих вивчали за даними анамнезу, об'єктивного обстеження, використали шкали оцінювання немоторних симптомів, когнітивних і ментальних порушень (шкала немоторних симптомів – NMSS, шкала ментальних порушень – MMSE, Монреальська шкала когнітивних розладів – MOCA); для оцінювання немоторних симптомів додатково застосували опитувальник для виявлення вегетативних розладів (за А. М. Вейном, 1998). Контрольній та експериментальній групам запропонували фізичні навантаження (ЛФК), фізіотерапію, масаж, раціональне харчування (дієтотерапія). Експериментальній групі додали ерготерапію.

**Результати.** Після фізичної реабілітації стан хворих суттєво поліпшився. Підсумковий бал в експериментальній групі хворих із немоторними проявами хвороби Паркінсона за шкалою оцінювання немоторних симптомів був статистично вірогідно нижчим і становив  $61,04 \pm 0,39$  ( $p < 0,01$ ). Підсумковий бал за шкалою ментальних порушень став статистично вірогідно вищим –  $27,78 \pm 0,27$  ( $p < 0,01$ ), як і за шкалою когнітивних змін –  $25,13 \pm 0,19$  ( $p < 0,01$ ). Згідно з опитувальником вегетативних порушень за А. М. Вейном,

### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/239791>

UDC 615.825:616.858

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.239791](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.239791)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 382–389**

**Key words:** Parkinson's disease, rehabilitation, occupational therapy, non-motor symptoms, cognitive and mental disorders.

\*E-mail: [sorokinasvitlana75@ukr.net](mailto:sorokinasvitlana75@ukr.net)

Received: 09.09.2021 // Revised: 29.09.2021 // Accepted: 30.09.2021



сумарний бал у контрольній групі становив  $64,0 \pm 3,2$ , в експериментальній –  $51,0 \pm 5,4$  ( $p < 0,01$ ). Отже, під впливом додаткових занять з ерготерапії в експериментальній групі і за шкалою немоторних симптомів, і за опитувальником за А. М. Вейном спостерігали статистично вірогідне поліпшення стану хворих.

**Висновки.** Виявили вірогідну різницю ( $p < 0,01$ ) стану хворих за підсумковими балами в бік поліпшення між контрольною та експериментальною групами хворих за результатами обстеження за всіма шкалами. Найсуттєвішу різницю спостерігали за шкалою немоторних симптомів. Певну роль у поліпшенні стану хворих за відповідним скринінгом, що виконаний за допомогою шкал досліджень та опитувальника пацієнтів для виявлення вегетативних розладів (за А. М. Вейном, 1998), очевидно, відіграли компоненти реабілітаційної програми, яка додатково включала заняття з ерготерапії.

**Ключові слова:** хвороба Паркінсона, реабілітація, ерготерапія, немоторні симптоми, когнітивні та ментальні порушення.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 382–389**

## Применение эрготерапии в программе физической реабилитации пациентов с болезнью Паркинсона

Е. И. Антонова, С. А. Сорокина

**Цель работы** – разработать комплекс реабилитационных мероприятий с включением занятий по эрготерапии при болезни Паркинсона и оценить объективное состояние пациентов по шкалам немоторных симптомов, когнитивных и ментальных нарушений.

**Материалы и методы.** Состояние больных изучили по данным анамнеза, объективного обследования и шкал оценки немоторных симптомов, когнитивных и ментальных нарушений (шкала немоторных симптомов – NMSS, шкала ментальных нарушений – MMSE, Монреальская шкала когнитивных расстройств – MOCA); для оценки немоторных симптомов дополнительно использовали опросник пациентов для выявления вегетативных расстройств (по А. М. Вейну, 1998). Контрольной и экспериментальной группам назначены физические нагрузки (ЛФК), физиотерапия, массаж и рациональное питание (диетотерапия). Экспериментальной группе добавляли эрготерапию.

**Результаты.** После физической реабилитации состояние больных значительно улучшилось. Итоговый балл в экспериментальной группе больных с немоторными проявлениями болезни Паркинсона по шкале оценки немоторных симптомов был статистически достоверно ниже и составлял  $61,04 \pm 0,39$  ( $p < 0,01$ ). Итоговый балл по шкале ментальных нарушений стал статистически достоверно выше –  $27,78 \pm 0,27$  ( $p < 0,01$ ), как и по шкале когнитивных изменений –  $25,13 \pm 0,19$  ( $p < 0,01$ ). По опроснику вегетативных нарушений по А. М. Вейну суммарный балл в контрольной группе составил  $64,0 \pm 3,2$ , в экспериментальной –  $51,0 \pm 5,4$  балла ( $p < 0,01$ ). Таким образом, под влиянием дополнительных занятий по эрготерапии в экспериментальной группе и по шкале немоторных симптомов, и по опроснику по А. М. Вейну наблюдали статистически достоверное улучшение состояния больных.

**Выводы.** Отмечена достоверная разница ( $p < 0,01$ ) состояния больных по итоговым баллам в сторону улучшения между контрольной и экспериментальной группами больных по результатам обследования по всем шкалам. Значимая разница установлена по шкале немоторных симптомов. Определённую роль в улучшении состояния больных по соответствующему скринингу, выполненному с использованием шкал исследований и опросника пациентов для выявления вегетативных расстройств (по А. М. Вейну, 1998), очевидно, сыграли компоненты реабилитационной программы, которая дополнительно включала занятия по эрготерапии.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, реабилитация, эрготерапия, немоторные симптомы, когнитивные и ментальные нарушения.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 382–389**

Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurological diseases after Alzheimer's disease. According to the WHO, the incidence of PD is from 60 to 187 cases per 100.000 of population. In Ukraine, about 133 cases of PD per 100 thousand of population are registered. Despite the fact that the disease is steadily progressing and today there are no means to stop the neurodegenerative process, the rational use of existing approaches to treatment allows to maintain adequate physical activity of patients, enabling them and their families to maintain a normal lifestyle for many years [3,4]. Methods of physical rehabilitation occupy an important place in the complex PD treatment. Its main tasks in patients with PD are as follows: to prevent or reduce the growth rate of pathological symptoms and to adapt patients to existing functional disorders [4]. Physical rehabilitation for Parkinson's disease should be comprehensive, with special emphasis on exercise therapy and massage, as well as mandatory consideration of the patient's age, general physical condition, the presence of comorbidities and stage of the disease.

## Aim

The aim of the work is to develop a set of rehabilitation measures including occupational therapy classes for Parkinson's disease and to assess the objective condition of patients on the scales of non-motor symptoms, cognitive and mental disorders.

## Materials and methods

Research methods include the following: the study of patients conducted according to the anamnesis, objective examination and scales for assessment of non-motor symptoms, cognitive and mental disorders (scale of non-motor symptoms – NMSS, scale of mental disorders – MMSE, Montreal scale of cognitive disorders – MOCA); to assess non-motor symptoms, a questionnaire of patients for the detection of autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998) was additionally used. In the course of the research, a sample of scales and tests used in Ukraine, European and American countries in the process of cognitive level diagnosis was made. These include a



brief examination of cognitive functions (Mini-Mental State Examination – MMSE), Montreal Cognitive Assessment (Montreal Cognitive Assessment – MOCA). In a detailed analysis, the above examination tools were evaluated for the following properties: availability, objectivity, and specificity for determining the cognitive level in patients with PD.

Mini-mental State Examination (MMSE) test comprises 30 questions for an approximate assessment of the state of cognitive functions – orientation in time, place, perception, memory, speech, performance of a three-stage task, reading, drawing. This test is universal for use in neurology and gives quite objective results.

The Montreal Cognitive Assessment (MOCA) is a short 30-question test that takes about 10–12 minutes. The advantages of this test are brevity, simplicity and accessibility for free use. It is also widely used in neurorehabilitation due to its use in various pathologies (Alzheimer’s disease, post-stroke patients, people with trauma and PD).

To assess non-motor symptoms, a patient questionnaire was additionally used to detect autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998). The questionnaire included the following questions: tendency to redness or pallor of the face with any agitation; numbness or coldness of the fingers, toes; whether there is a change in color of the fingers, feet; feeling of palpitations, “fading”, “stopping” of the heart; increased sweating (constant or agitated); feeling short of breath (shortness of breath, rapid breathing); dysfunction of the digestive system (predisposition to constipation, diarrhea, bloating, pain); feeling sick (dizziness or fainting); headache attacks (diffuse headache, or “half” of the head, “whole head”, squeezing or throbbing pain); reduced efficiency, fatigue; sleep disturbances, difficulty falling asleep, shallow sleep with frequent awakenings, feeling of “lack of sleep”, fatigue when waking up in the morning. These have to be filled in by the patients themselves. The sum of scores exceeding 15 indicated the presence of PD [5].

The research was conducted on the basis of the hospital No. 1 of Kremenchuk. During the experiment, the study involved 20 patients with Parkinson’s disease. In order to determine the impact of the rehabilitation program on recovery, psychological condition, patients were divided into two groups. The control group consisted of 10 people, the experimental group was formed of also 10 people – women and men aged from 60 to 70 years. During the experiment, participants were in the second stage of Parkinson’s disease. The control and experimental groups were offered exercise, physiotherapy, massage and nutrition (diet). The experimental group was additionally prescribed with occupational therapy. The methods of physical rehabilitation used during the experiment involve only biomechanical effects, always individually oriented, and have no age-related contraindications (Table 1).

Exercise therapy is now the simplest and, at the same time, effective method of overcoming Parkinson’s syndrome, as it improves the functioning of the motor, respiratory, digestive and cardiovascular systems. In addition, exercise therapy has a significant positive effect on the psycho-emotional state of the patient, reduces anxiety and the likelihood of depression.

**Table 1.** General content of the physical rehabilitation program for the patients with Parkinson’s disease

Means of physical rehabilitation	CG	EG	Number of times of application, duration
Exercises: – exercises with active movements; – muscle stretching exercises; – counteraction exercises	+	+	20 min, 1 time a day
Therapeutic massage	+	+	10 min, 1–2 times a day
Physiotherapy: – magnetic therapy; – ultrasound therapy; – electrosleep	+	+	Once a day, individual dosage as prescribed by the doctor
Diet therapy	+	+	Individually, as prescribed by the doctor
Ergotherapy	-	+	20 min, 2–3 times a day

Objectives of exercise therapy in Parkinson’s disease are reducing functional limitations due to rigidity, slow movements and postural changes; maintaining or increasing the range of motion, which prevents contractures and deformations; improving balance, gait and coordination; preventing falling; promoting self-service. In general, there is an increase in patients’ daily activity. Dosed exercise has been shown to improve metabolism, reduce stress and activate cerebral blood flow [12].

The complex of motor rehabilitation in Parkinson’s disease included exercises with active movements, exercises for stretching muscles, counteracting exercises (for muscle relaxation, increasing the amplitude of movements and reducing pain). Breathing exercises are a necessary condition for exercise PD therapy in order to prevent and reduce congestion in the lungs against the background of general hypokinesia. Among the training options were used for the studied patients with second stage of the disease, walking was particularly productive – on a flat place, on different surfaces with different pace and stride length, at an angle and passing through bottlenecks, in a crowd of people [9]. To correct walking, aerobic training on a treadmill or exercise bike was used, as well as “Scandinavian walking”, aerobic exercises, various types of walking, reducing falls and stiffness.

**Exercise complexes included the following activities:**

1. Deep breathing. Aim: to achieve deeper breathing. In a sitting position, hands on stomach. A slow deep breath is taken through the nose, the chest expands and the abdomen “inflates”. Then slowly, counting to 5, exhale through your mouth (as if blowing candles). Repeat 10 times. In a standing position. Approach the wall. Stand so that the whole back and waist is pressed to the wall or other vertical surface: cabinet, door, etc. Raise your hands up and, touching the wall with them, take a deep breath; when exhaling, lower your arms down and cross them in front of your chest and abdomen so that the your right hand touches your left elbow and vice versa. Repeat 10 times.

2. Exercise for posture. Aim: to learn to regulate the tension of the muscles of the neck and torso to counteract

the formation of a "stooped posture". Stand with your back to the wall so that the back of the head, shoulders, buttocks, thighs and legs touch the wall; the hands should be placed along the body, the palms rest against the wall. With the tension "squeeze" into the wall (count to 5), and then relax and unwind; repeat up to 5 times and return to starting position. Remaining "stuck" to the wall with the back of the head, back, buttocks and palms, sit squatting "sliding" back on the wall. If it is difficult to get up later, put a chair or a stick next to you. Stand facing the wall so that one cheek, turned to the side, chest, abdomen, and thighs "stuck" to the wall. Spread your arms at shoulder level and position them so that your palms "stick" to the wall. Raise your palms above your head. When the palms are above the head – exhale, when they return to shoulder level – inhale. Perform until exhaustion.

3. "Twisting the torso". Aim to improve the mobility of the muscles of the neck, shoulders, and torso. In a sitting or standing position, place your palms on your shoulders or neck. Rotate the head, neck and torso first to one side and then to the other as much as possible. There should be a slight tension in the muscles of the torso. Repeat 10 times.

4. Bending of the torso. Purpose: to improve posture and improve mobility in the thoracic and lumbar spine. Sitting on a chair, put your palms on your knees, lean forward, then bend your back in an arc, straighten your shoulders. Then sit up straight. Repeat 10 times. Sitting on a chair, place your hands on your waist (take yourself by the waist). Bend at the waist, protruding chest forward and straighten shoulders, counting to 20 times. Then sit up straight. Repeat 10 times.

5. Push-ups. Aim: to stretch the shoulder muscles and improve posture. Stand facing the corner of the room. Rest your hands on both walls and bend to the corner, bending your arms at the elbows so that you can feel the muscle tension. When performing a tilt, do not take your feet off the floor. Leaning down to continue to rest his hands on the walls for 20 seconds. Then return to starting position. Repeat 10 times.

6. Circular movements and inclinations of the torso. Aim: To improve the mobility of the torso muscles. Starting position standing, feet shoulder-width apart, arms at waist. Perform circular movements of the torso (how to rotate the hoop), as well as tilts forward, backward, sideways. Repeat 10 times in each direction.

7. Exercises for the muscles of the neck and upper arms Turns the head to the side. Purpose: to improve mobility in the cervical spine. In a sitting or standing position, slowly turn your head from side to side, trying to look over your shoulder when turning. Turning your head, hold it in this position for up to 5 seconds. There should be a slight tension in the muscles of the neck. Repeat 10 times. Slowly tilt your head to the side, alternately to each shoulder. When leaning, try not to turn your head, look ahead. There should be a slight tension in the neck muscles with each tilt. Perform 10 inclines in each direction. In a sitting or standing position. Unbend your neck and push your chin forward. Then return to starting position. Repeat 10 times. Lower your head and touch your chin to your chest, return your head to its original position. Repeat 10 times.

8. Exercises for shoulder girdle muscles. Aim: To achieve tension training and relaxation of the muscles of the upper shoulder girdle. In a sitting or standing position, join hands with palms together. Tighten your arms, that there is strength so that the palms rest against each other. Count to 20. Repeat 5–10 times. In a sitting or standing position, bend your arms at the elbows and bring your elbows back, bringing the shoulder blades closer together. Keep them in this position, counting to five. Repeat 10 times. In a sitting or standing position, make circular movements with the shoulders (the shoulder moves up, back, down and forward). Perform together or alternately with each shoulder up to 5 times. Then repeat the circular motions in the opposite direction (down, forward, up, back).

9. Exercise for hands. Aim: To improve mobility in the elbow and wrist joints. In a sitting position, put your hands on your thighs, palms down. Then turn your hands palms up. Start these alternating movements at a slow pace, then gradually increase the pace of movements. In a sitting position, slowly perform circular rotations of the hand of one hand in the radial wrist joint. Perform five turns in each direction. Then perform circular rotations of the brush of the other hand. If necessary, to facilitate the movements of the brush of one hand, you can fix this forearm with the other hand. In a sitting or standing position, alternately touch the thumb to 2, 3, 4 and 5 fingers. Continue the exercise, trying to increase the pace of movement.

**Features of therapeutic massage in Parkinson's disease.** Massage is recommended daily. In complex therapy it gives an excellent result. Stroking, warm-up and rubbing are the most common massage techniques for parkinsonism. Weak shock techniques and vibration are also possible [10]. Massage is performed on the following areas: lower back; pelvic area; lower extremities; abdominal area.

Massage of the lower back: stroking (in the direction from the pelvic area to the lower corners of the shoulders): a) straight; b) alternating; c) spiral; squeezing (in the same direction): a) palm; b) transverse; kneading (on the long muscles of the back): a) circular pad of the thumb; b) pads of four fingers; c) the edge of the thumb; d) "pinch"; e) palm with rolling; rubbing (on the lumbar region): a) rectilinear pad and the mound of the thumb; b) circular pads of fingers; c) the radial side of the brush; d) circular palm; e) sawing; f) intersection; rubbing (along the spine from the sacrum to the lower corners of the shoulder blades): a) rectilinear pads of the 2–3<sup>rd</sup> fingers; b) rubbing on the intercostal processes; c) circular cushion of the 2<sup>nd</sup> finger; d) circular pad of the third finger [3,6].

Massage of the pelvic area on the gluteal muscles: stroking: a) straight, b) alternating; squeezing; kneading: a) ordinary; b) double ring; c) circular with both fists; d) circular.

Massage of the lower extremities. It is performed first on the back surface in the following sequence: thigh, calf muscle, sole.

Abdominal massage: stroking (palm surface of the hand clockwise); horseshoe squeezing; kneading on the rectus abdominis: a) ordinary; b) double ring; c) combined; d) phalanges of bent fingers; stroking; massaging the solar plexus.

A total of 12–14 sessions were held (daily or every other day).

Physiotherapy allows you to activate metabolic processes, improve blood circulation. In complex rehabilitation together with exercise therapy, massage, physiotherapy techniques have a positive effect on the central, peripheral and autonomic nervous system, musculoskeletal system. The following methods of physiotherapy were used: magnetic therapy; ultrasound; electrosleep; magnetic therapy.

**Magnetic therapy.** A permanent magnetic field is used as a sedative, excessive tonus reliever, immunostimulant; alternating magnetic field of high or low frequency radiation can relieve pain, reduce edema, reduce the intensity of inflammation; the impulse effect tones muscles and stimulates the heart. The BTL-5000 magnetic therapy device was used for magnetic therapy. The BTL-5000 combines 2 types of therapy: electrotherapy and magnetic therapy, which are controlled independently of each other and according to the indications can be used in combination. The length and the regimen of the procedure are assigned individually, depending on the characteristics of the patient and the disease. During the procedure, blood pressure is significantly reduced, but after 4–5 sessions the body adapts.

**Ultrasound therapy.** Causes compression and stretching of tissues, thereby stimulating the recovery process. Due to the acoustic pressure, micro-vibrations of the tissues are created and the areas that cannot be reached manually are massaged. The treatment course often consists of 5–6 procedures. One treatment is about 15 minutes long. Its effects include the improvement of metabolic processes in tissues; an increase in the production of collagen and elastin; oxygen saturation of cells; normalization of blood circulation; relief to pain and cramps.

**Electrosleep.** The mechanism of action of this method means direct and reflex effects of current pulses on the cerebral cortex. This procedure stimulates hematopoiesis in the human body, normalizes blood clotting, activates the function of the gastrointestinal tract, improves the excretory and reproductive system, and helps to lower blood cholesterol.

**Diet therapy.** Parkinson's disease adversely affects the digestive functions of the body. Patients with this disease often experience a decrease in taste, smell, appetite, depressed mood. They suffer from nausea, constipation, weight loss. The basis of the daily diet for Parkinson's disease should include grains and cereals, enough vegetables and fruits, foods rich in calcium and a small amount of protein-rich foods.

The daily human energy requirement is 25–30 kcal per 1 kg of body weight. When calculating calories in patients with Parkinson's disease, it is taken into account that violent movements such as tremor, as well as spastic manifestations consume about as many calories as moderate exercise [4]. The ratio of carbohydrates and proteins should be at least 4–5:1. The recommended daily dose of protein averages 0.8 g per 1 kg of body weight [9]. With Parkinson's disease, it is not recommended to starve; eat a lot of salt (6 grams per day is recommended, it is better to salt food at the end of cooking); fast food, a lot of sweets (carbohydrates abuse is dangerous

to health), snacks (they contain a lot of dyes); alcohol, soft drinks. One should eat 5–6 meals – 3 main meals and 2 additional a day. There is no special diet for Parkinson's disease.

However, the role of proper nutrition in this disease is very important. Food should be varied, rich in B vitamins (B1, B2, B6, B12, folic acid), which are involved in the regulation of metabolism in nervous tissue, including increasing dopamine levels. B12 and folic acid also reduce the amount of the amino acid homocysteine (it is believed that it is involved in the pathogenesis of the disease). These vitamins intake has a positive effect on the mood of patients and reduces depression.

Among the recommended products for Parkinson's disease, B1 is found in potatoes, oatmeal, buckwheat, nuts, carrots, spinach. Suppliers of B2 are eggs, cabbage, dairy products, rosehip. B6 is obtained from cereals, meat, fish, bananas, potatoes, berries. Sources of B12 are fish, soy, sea kale. Folic acid (B9) is found in dark green vegetables (spinach, asparagus, lettuce), avocados, beans, less in egg yolks. Patients are also recommended products containing vitamins C, E, A (antioxidants): fruits and berries; especially bright colors: red, yellow, black (blueberries, strawberries, raspberries, black currants, red peppers, beets, carrots, etc.). Vitamin E is abundant in unrefined vegetable oils, egg yolks. Patients should receive fruits, vegetables, greens, potatoes, nuts, various seeds. Legumes are recommended in the early stages of the disease. White meat (turkey, rabbit, chicken) is recommended.

Parkinson's disease has a profound effect on motor activity and muscle function. Therefore, patients may have problems with eating itself – it may be difficult to hold a spoon, swallow, chew pieces. To facilitate the process, doctors recommend following these rules: eat small portions at least 5–6 times a day, eat only sitting up straight, and when swallowing lean forward slightly; no rush, chewing slowly, no mouth clogging, eating liquid food. For convenience, you can drink through a straw, it is important not to take large sips, so as not to splutter. It is best to use a spoon. If it is difficult to hold in hands, one can wrap the handle with any convenient tape. This will make it wider and it will be easier to grab the spoon. For any dishes, deep wide plates are preferable so that the food does not spill. The table surface should not be gliding so that objects do not move or fall to the floor due to involuntary movement. The easiest way is to lay a thick textile tablecloth or put the dishes on a special rubberized or bamboo mat.

**Ergotherapy.** Daily therapy, or ergotherapy, is a type of rehabilitation treatment aimed at restoring those functions that are necessary for daily activities. First of all, attention is paid to the functioning of the upper extremities [8]. The purpose of rehabilitation treatment is to ensure the independence of a person in his daily life, to make their home environment comfortable and safe, where everything is at hand, with the help of special tools. Parkinson's disease significantly complicates self-care (dressing, washing, eating, taking a bath, using the toilet) and interferes with daily activities both around the house (cleaning, cooking and other household chores) and outside the home (e.g. shopping). However, with the help of various techniques and aids you can adapt to your illness; you can become less dependent on its symptoms by

**Table 2.** The condition of patients of different groups on the scales for assessing their condition (M ± m)

Groups of patients	NMSS	MMSE	MOCA
Control (n = 10)	71.13 ± 0.32	25.52 ± 0.30	22.16 ± 0.23
Experimental (n = 10)	61.04 ± 0.39*	27.78 ± 0.27*	25.13 ± 0.19*

\*: significant ( $P < 0.01$ ) difference between groups.

**Table 3.** Comparative assessment of patients in the control and experimental groups

Questionnaire	Control group	Experimental group	Certainty
Wayne's questionnaire	64.0 ± 3.2 point	51.0 ± 5.4 point	$P < 0.01$

learning to cope with daily activities. Both individual and group activities are used in rehabilitation treatment. Creative activities help to improve the emotional state, as well as improve hand function and fine motor skills.

The occupational therapy program included the following: self-care training; using the toilet (the toilet should be high and have handrails on both sides); washing (to avoid slipping, the floor covering in the bathroom should be rough; movement should be facilitated by handrails on the walls; a chair should be put in the shower to avoid falls); eating (cutlery with thickened handles, mounts for steadying plates); dressing (activities that require fine motor skills such as fastening and unbuttoning buttons and hooks, tying and untying laces; putting on socks and shoes); sitting position; suitable clothing; improvised means; changing position (the bed or chair should have the appropriate height). As for the household chores and other activities, small items must have thickened handles; work tools must have long handles; work surfaces should be high enough. Rehabilitation procedures should be started in the early stages of the disease to better adapt to the disease and live the most active life [1–10].

After the physical rehabilitation, the condition of the patients significantly improved. Cognitive, mental functions, motor abilities and manifestations of the cardiovascular system have been effectively improved through exercise and the whole complex of developed physical therapy. In patients, there was a significant improvement in thinking, memory or decision-making, recovery of motor skills. In the majority of patients, some of the symptoms disappeared, and in the rest, myalgia and arthralgia became less pronounced, thinking and mood improved, and blood pressure returned to normal [11–15].

Changes in the condition of patients after physical therapy for the better were registered according to both subjective and objective survey data. The data on the scales for assessing the condition of patients with non-motor manifestations of Parkinson's disease were particularly significant. They showed a significant difference between the control and experimental groups of patients. As can be seen in *Table 2*, the final score in the control group of patients on the scale of assessment of non-motor symptoms was  $71.13 \pm 0.32$ , on the scale of mental disorders –  $25.52 \pm 0.30$ , on the scale of cognitive changes –  $22.16 \pm 0.23$  points.

The final score in the experimental group of patients with non-motor manifestations of Parkinson's disease on the scale of assessment of non-motor symptoms was statistically

significantly lower and was  $61.04 \pm 0.39$  ( $P < 0.01$ ). The final score on the scale of mental disorders was statistically significantly higher –  $27.78 \pm 0.27$  ( $P < 0.01$ ), on the scale of cognitive changes, it also became statistically significantly higher –  $25.13 \pm 0.19$  ( $P < 0.01$ ).

To assess non-motor symptoms, a patient questionnaire was additionally used to detect autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998) (*Table 3*).

According to Wayne's questionnaire of autonomic disorders, the total score in the control group was  $64.0 \pm 3.2$ . In the experimental group of patients, the total score was  $51.0 \pm 5.4$  points ( $P < 0.01$ ).

## Results

In the experimental group of patients, according to both the scale of non-motor symptoms and Wayne's questionnaire, there was a statistically significant improvement in patients. The final score in the experimental group of patients with non-motor manifestations of Parkinson's disease on the scale of non-motor symptoms was statistically significantly lower and was  $61.04 \pm 0.39$  ( $P < 0.01$ ) (in the control group, it was  $71.13 \pm 0.32$ ). The final score on the scale of mental disorders was statistically significantly higher –  $27.78 \pm 0.27$  ( $P < 0.01$ ) (in the control group, it was  $25.52 \pm 0.30$ ), on the scale of cognitive changes, it also became statistically significantly higher –  $25.13 \pm 0.19$  ( $P < 0.01$ ) (in the control group, it was  $22.16 \pm 0.23$ ).

## Discussion

Significant improvement in the condition of patients in the experimental group by appropriate screening with scales of research and interviewing patients to identify autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998) contributed to the components of the rehabilitation program, which further included classes with elements of occupational therapy. Parkinson's disease significantly complicates self-care and interferes with daily activities both at home and outside. The use of elements of occupational therapy is aimed at restoring those functions that are necessary for daily activities

## Conclusions

1. Before developing a rehabilitation program, a survey of motor functions and non-motor symptoms was performed



in patients with Parkinson's disease. There were various disorders: from a slight decrease in memory to more serious problems with attention, thinking and memory, concentration. From the cardiovascular system, patients complained of a feeling of increased heart rate, fading, cardiac arrest, high blood pressure and its fluctuations, sweating, difficulty breathing, shortness of breath, fainting in a stuffy room. In some patients, non-motor signs of PD were manifested by moderate cognitive impairment. Only a few have had elements of dementia that indicate that PD is beginning to affect areas of their brain that control attention, thinking, and memory. Hallucinations, mainly visual, were recorded in some patients. They could "see" animals or people who were not really around them. At first, most people admitted that hallucinations were not real to them.

Thus, the identified motor disorders and non-motor symptoms were taken into account when prescribing means and methods of physical rehabilitation for the correction of motor disorders.

2. Regular rehabilitation interventions slow down the progression of the disease. Therefore, immediately after the examination and diagnosis, exercise, occupational therapy, and diet are required. The main goal of physical therapy for Parkinson's disease is to relax muscles and joints, reduce muscle atrophy caused by impaired mobility. Exercise should stretch the shortened muscles and increase the mobility of the joints, improve coordination of movements, posture, and increase stride while walking. In addition, physical rehabilitation improves breathing, strengthens the voice and makes speech more expressive. Exercises should cover all muscle groups and movements in all joints to ensure maximum range of motion. Each session trains a specific muscle group but most of these exercises should focus on training those movements that help to overcome the motor disorders caused by the disease. Any motor exercises are easier to perform in a rhythmic mode which is familiar or pleasant to the patient: this can be either rhythmic melodies or simple calculation, both aloud and "mentally". At Parkinson's disease, it is necessary to do massage as the patient loses the ability to move freely. Massage helps to restore muscle mobility, but it is especially important that it has a positive effect on the CNS. With parkinsonism, it is desirable to massage daily or at least every other day. In complex therapy, it gives an excellent result.

The general program of physical rehabilitation for the studied groups included exercise therapy, physiotherapy, nutrition and massage. The control and experimental groups were offered exercise, physiotherapy, massage and nutrition. Some elements of occupational therapy were added to the experimental group. The methods of physical rehabilitation used during the experiment involve only biomechanical effects, always individually oriented; they have no age-related contraindications.

3. Based on the results of the study, it can be concluded that there is a significant difference ( $P < 0.01$ ) in the condition of patients on the final scores, with the pronounced improvement in the condition of the experimental group

patients in comparison with the control group patients, following the results of all survey scales. The most significant difference is observed on the scale of non-motor symptoms. Components of the applied rehabilitation program, which additionally included occupational therapy classes, obviously played a role in improving the patients' condition by appropriate screening with the help of research scales and a questionnaire of patients for the detection of autonomic disorders (according to A. M. Wayne, 1998). The implementation of rehabilitation measures for non-motor PD manifestations had sufficient theoretical and practical justification, which was confirmed by relevant studies, and probably revealed the impact of rehabilitation on the processes of neuroplasticity of patients with PD – synaptogenesis, neurogenesis, neuronal sprinting, increased stimulators of neurotransmitters. The improvement of patients, lower blood pressure and some normalization of lipid homeostasis, undoubtedly occurred under the influence of the developed comprehensive physical rehabilitation.

4. The data obtained during the analysis of research results testify to the effectiveness of the complex physical rehabilitation of motor disorders and non-motor manifestations of Parkinson's disease developed and used in the therapeutic process, and allow to recommend it for wider implementation.

**Prospects for further research.** In the future, the clinic plans to develop a physical rehabilitation program for Parkinson's disease using aquatherapy.

---

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

---

#### Information about authors:

Antonova O. I., PhD, Associate Professor of the Department of Human Health and Physical Culture, Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-0660-760X](https://orcid.org/0000-0002-0660-760X)

Sorokina S. O., Senior Lecturer of the Department of Human Health and Physical Culture, Kremenchuk Mykhailo Ostrohradskyi National University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7345-2348](https://orcid.org/0000-0001-7345-2348)

#### Відомості про авторів:

Антонова О. І., канд. біол. наук, доцент каф. здоров'я людини та фізичної культури, Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського, Україна.

Сорокіна С. О., старший викладач каф. здоров'я людини та фізичної культури, Кременчуцький національний університет імені Михайла Остроградського, Україна.

#### Сведения об авторах:

Антонова Е. И., канд. биол. наук, доцент каф. здоровья человека и физической культуры, Кременчугский национальный университет имени Михаила Остроградского, Украина.

Сорокина С. А., старший преподаватель каф. здоровья человека и физической культуры, Кременчугский национальный университет имени Михаила Остроградского, Украина.

---

#### References

- [1] Kokhan, S. T., Pateyuk, A. V., Mingalova, M. S., & Grygus, I. M. (2015). Ispol'zovanie ippoterapii v fizicheskoi reabilitatsii bol'nykh s razlichnoi patologiei [Use hippotherapy in physical rehabilitation of patients with different pathologies]. *Journal of Education, Health and Sport*, 5(2), 289-296. [in Russian]. <https://doi.org/10.5281/zenodo.17836>

- [2] Ferti, E., Doppelbauer, A., & Auff, E. (1993). Physical activity and sports in patients suffering from Parkinson's disease in comparison with healthy seniors. *Journal of neural transmission. Parkinson's disease and dementia section*, 5(2), 157-161. <https://doi.org/10.1007/BF02251206>
- [3] Morris M. E. (2000). Movement disorders in people with Parkinson disease: a model for physical therapy. *Physical therapy*, 80(6), 578-597.
- [4] Moiseello, C., Blanco, D., Fontanesi, C., Lin, J., Biagioni, M., Kumar, P., Brys, M., Loggini, A., Marinelli, L., Abbruzzese, G., Quartarone, A., Tononi, G., Di Rocco, A., Ghilardi, M. F., & Sensory Motor Integration Lab (SMILab) (2015). TMS enhances retention of a motor skill in Parkinson's disease. *Brain stimulation*, 8(2), 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.11.005>
- [5] Corcos, D. M., Robichaud, J. A., David, F. J., Leurgans, S. E., Vaillancourt, D. E., Poon, C., Rafferty, M. R., Kohrt, W. M., & Comella, C. L. (2013). A two-year randomized controlled trial of progressive resistance exercise for Parkinson's disease. *Movement disorders*, 28(9), 1230-1240. <https://doi.org/10.1002/mds.25380c>
- [6] Mehrholz, J., Kugler, J., Storch, A., Pohl, M., Elsner, B., & Hirsch, K. (2015). Treadmill training for patients with Parkinson's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (8), CD007830. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007830.pub3>
- [7] Li, F., Harmer, P., Fitzgerald, K., Eckstrom, E., Stock, R., Galver, J., Maddalozzo, G., & Batya, S. S. (2012). Tai chi and postural stability in patients with Parkinson's disease. *The New England journal of medicine*, 366(6), 511-519. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1107911>
- [8] Monticone, M., Ambrosini, E., Laurini, A., Rocca, B., & Foti, C. (2015). In-patient multidisciplinary rehabilitation for Parkinson's disease: A randomized controlled trial. *Movement disorders*, 30(8), 1050-1058. <https://doi.org/10.1002/mds.26256>
- [9] Domingos, J., Keus, S., Dean, J., de Vries, N. M., Ferreira, J. J., & Bloem, B. R. (2018). The European Physiotherapy Guideline for Parkinson's Disease: Implications for Neurologists. *Journal of Parkinson's disease*, 8(4), 499-502. <https://doi.org/10.3233/JPD-181383>
- [10] Abbruzzese, G., Trompetto, C., Mori, L., & Pelosin, E. (2014). Proprioceptive rehabilitation of upper limb dysfunction in movement disorders: a clinical perspective. *Frontiers in human neuroscience*, 8, 961. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00961>
- [11] Barry, G., Galna, B., & Rochester, L. (2014). The role of exergaming in Parkinson's disease rehabilitation: a systematic review of the evidence. *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, 11, 33. <https://doi.org/10.1186/1743-0003-11-33>
- [12] Winward, C., Sackley, C., Meek, C., Izadi, H., Barker, K., Wade, D., & Dawes, H. (2012). Weekly exercise does not improve fatigue levels in Parkinson's disease. *Movement disorders*, 27(1), 143-146. <https://doi.org/10.1002/mds.23966>
- [13] Tomlinson, C. L., Patel, S., Meek, C., Clarke, C. E., Stowe, R., Shah, L., Sackley, C. M., Deane, K. H., Herd, C. P., Wheatley, K., & Ives, N. (2012). Physiotherapy versus placebo or no intervention in Parkinson's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (8), CD002817. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002817.pub3>
- [14] Clark, E. C., Clements, B. G., Erickson, D. J., Maccarty, C. S., & Mulder, D. W. (1956). Therapeutic exercises in management of paralysis agitans. *Journal of the American Medical Association*, 162(11), 1041-1043. <https://doi.org/10.1001/jama.1956.02970280021008>
- [15] Hirsch, M. A., & Farley, B. G. (2009). Exercise and neuroplasticity in persons living with Parkinson's disease. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 45(2), 215-229.



## Біологічно орієнтований синтез ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (Частина 2)

Ю. В. Карпенко<sup>ID</sup>\*A-F, С. М. Куліш<sup>ID</sup>B, Н. А. Аль Халаф<sup>ID</sup>B

Запорізький державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Гетероциклічні сполуки – дуже важлива галузь органічної хімії та завжди актуальний для вивчення аспект медичної хімії, оскільки вони містяться в різних препаратах, вітамінах і біологічно активних сполуках.

1,3,4-Оксадіазоли протягом двох десятиліть були в центрі наукового інтересу хіміків через різноманітний терапевтичний потенціал, що зумовлений передусім принципами комбінаторної хімії та широким спектром біологічної активності. У продовженні оглядової статті систематизували й узагальнили відомості фахової літератури, що стосуються хімії гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів як важливих синтетичних субстратів і попередників для біологічно орієнтованого синтезу. Гетероциклічні 1,3,4-оксадіазоли та їхні похідні широко використовують як антибактеріальні, фунгіцидні, протизапальні, антидіабетичні, протиракові, протитуберкульозні, антиоксидатні, протималярійні, знеболювальні, протисудомні, антидепресивні й анти-ВІЛ засоби. Важливо наголосити, що поєднання ядра 1,3,4-оксадіазолу з різними гетероциклічними фрагментами в низці випадків супроводжувалося виникненням синергічного ефекту.

**Мета роботи** – пошук нових видів активності, систематизація та узагальнення фахових літературних джерел щодо методів біологічно орієнтованого синтезу ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів.

**Висновки.** Проаналізували, узагальнили й систематизували результати дослідження біологічної активності 1,3,4-оксадіазолів, що дало змогу підтвердити їхній різнобічний фармакологічний і біологічний потенціал. Встановлено, що оксадіазольний скафолд як основний структурний компонент входить до складу різноманітних біологічно активних сполук, а отже доцільне їх вивчення як перспективної структурної матриці для конструювання лікоподібних молекул. Аналіз викладеного матеріалу підтверджує важливість і реальну перспективу біологічно орієнтованого синтезу ліків цього сегмента хімії азотовмісних гетероциклів.

**Ключові слова:** 1,3,4-оксадіазоли, антидіабетична дія, антидіуретична дія, протисудомні засоби, антипіретичні препарати, протизапальна активність, хвороба Альцгеймера.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 390–398**

### Biologically oriented synthesis of medicines (BIODS) based on heterylpoxid 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles (Part 2)

Yu. V. Karpenko, S. M. Kulish, N. A. Al Halaf

Heterocyclic compounds make a very important branch of organic chemistry, and it has always been an interesting area of study in medical chemistry. They are present in a variety of drugs, vitamins and biologically active compounds.

Over two decades, 1,3,4-oxadiazoles have been of interest to chemists owing to their diverse therapeutic potential; the studies focus mainly on the principles of combinatorial chemistry with a broad spectrum of biological activity. In the continuation of the review article, the general literature sources that consider chemical heteryl derivatives of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles as important synthetic substrates and precursors for biologically oriented synthesis, are systematized. Heterocyclic 1,3,4-oxadiazoles and their derivatives are widely used as antibacterial, fungicidal, anti-inflammatory, antidiabetic, anticancer, antitubercular, antioxidant, antimalarial, analgesic, anticonvulsant, antidepressant and anti-HIV drugs. It is important to note that the combination of 1,3,4-oxadiazole nuclei with different heterocyclic moieties in some cases had synergistic effect.

**The aim of the work** is the search for new activities, systematization and generalization of literature sources on methods of biologically oriented drug synthesis (BIODS) based on heteryl derivatives of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles.

**Conclusions.** The article analyzes, generalizes and systematizes the data obtained from the literature that describes the results of the study of the biological activity of 1,3,4-oxadiazoles, which allowed to confirm their diverse pharmacological and biological potential. It is established that oxadiazoscaffold as the main structural component is found in various biologically active compounds which evidences the relevance of its further studies as a perspective structural matrix for construction of drug-like molecules. The analysis of the presented

#### ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/243664>

UDC 615.2.015.4.012.1:547.793

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.3.243664](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243664)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 390–398**

**Key words:** oxadiazoles, antidiabetic, antidiuretic effect, anticonvulsants, antipyretics, anti-inflammatories, Alzheimer's disease.

\*E-mail: [karpenko.y.v@gmail.com](mailto:karpenko.y.v@gmail.com)

Received: 02.09.2021 // Revised: 24.09.2021 // Accepted: 04.10.2021

material demonstrates the significance and prospectivity of biologically oriented drugs of this segment of the chemistry of nitrogen-containing heterocycles.

**Key words:** oxadiazoles, antidiabetic, antidiuretic effect, anticonvulsants, antipyretics, anti-inflammatories, Alzheimer's disease.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (3), 390–398**

## Биологически ориентированный синтез лекарств (BIODS) на основе гетерилпроизводных 2,5-дизамещенных 1,3,4-оксадиазолов (Часть 2)

Ю. В. Карпенко, С. Н. Кулиш, Н. А. Аль Халаф

Гетероциклические соединения – очень важная отрасль органической химии и всегда актуальный аспект медицинской химии, так как они содержатся в самых разных препаратах, витаминах и биологически активных соединениях.

1,3,4-Оксадиазолы в течение двух десятилетий были в центре интереса химиков в связи с разнообразным терапевтическим потенциалом, обусловленным в основном принципами комбинаторной химии и широким спектром биологической активности. В продолжении обзора систематизированы и обобщены данные научной литературы, касающиеся гетерилпроизводных 2,5-дизамещенных 1,3,4-оксадиазолов как важных синтетических субстратов и предшественников для биологически ориентированного синтеза. Гетероциклические производные 1,3,4-оксадиазола широко применяют как антибактериальные, фунгицидные, противовоспалительные, антидиабетические, противораковые, противотуберкулезные, антиоксидантные, противомаларийные, обезболивающие, противосудорожные, антидепрессивные и анти-ВИЧ средства. Важно отметить, что сочетание ядра 1,3,4-оксадиазола с разными гетероциклическими фрагментами в ряде случаев сопровождалось возникновением синергического эффекта.

**Цель работы** – поиск новых видов активности, систематизация и обобщение данных научной литературы относительно методов биологически ориентированного синтеза лекарств (BIODS) на основе гетерилпроизводных 2,5-дизамещенных 1,3,4-оксадиазолов.

**Выводы.** Проанализированы, обобщены и систематизированы результаты исследования биологической активности 1,3,4-оксадиазолов, что дало возможность подтвердить их разносторонний фармакологический и биологический потенциал. Установлено, что оксадиазольный скаффолд как основной структурный компонент входит в состав разнообразных биологически активных соединений и свидетельствует о целесообразности их изучения как перспективной структурной матрицы для конструирования лекарственных молекул. Анализ представленного материала подтверждает важность и реальную перспективу биологически ориентированного синтеза лекарств этого сегмента химии азотсодержащих гетероциклов.

**Ключевые слова:** 1,3,4-оксадиазолы, антидиабетическое действие, антидиуретическое действие, противосудорожные средства, антипиретические препараты, противовоспалительная активность, болезнь Альцгеймера.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 3(37). С. 390–398**

Гетероциклічні сполуки – дуже важлива галузь органічної хімії та завжди актуальний для вивчення аспект медичної хімії, оскільки вони містяться в різних препаратах, вітамінах і біологічно активних сполуках (протипухлинні, протизапальні, антидепресивні, антибактеріальні, протигрибкові, протівірусні, протидіабетичні, гербіцидні та інсектицидні засоби) [1,2]. Гетероциклічні частини мають важливі властивості в синтетичних препаратах, як-от підвищена проникність, селективність, ліпофільність, полярність і розчинність, і тому вони привернули увагу в аспекті медичної хімії та розроблення ліків [3].

Оксадиазолі відомі як похідні фурану, оскільки їх отримують із фуранового кільця шляхом заміни двох метиленових груп (-CH<sub>2</sub>) двома азотметинами (-N=). Наявність атома Оксигену змушує оксадиазольні кільця діяти як сполучені дієни з низьким ароматичним характером, як 1,2,3-, 1,2,4- та 1,2,5-ізомери, крім ізомера 1,3,4-оксадиазолу, який має найвищий ступінь ароматичності серед інших ізомерів. Акцепторний ефект атомів Нітрогену знижує електронну густину на атомах Карбону, тому оксадиазолі не можуть зазнавати електрофільних заміщень в атомів Карбону, але коли до оксадиазольного кільця приєднується донорна група, електрофільна реакція стає можливою.

1,3,4-Оксадиазолі протягом двох десятиліть були в центрі інтересу хіміків через різноманітний терапевтич-

ний потенціал. Гетероциклічні 1,3,4-оксадиазолі та їхні похідні широко використовують як антибактеріальні [4–6], фунгіцидні [7,8], протизапальні [9], антидіабетичні [10,11], протиракові [12–14], протитуберкульозні [15], антиоксидантні [16,17], протималарійні [18], знеболювальні, протисудомні, антидепресивні й анти-ВІЛ [19] засоби.

Зауважимо, що поєднання ядра 1,3,4-оксадиазолу з різними гетероциклічними фрагментами в низці випадків супроводжувалося виникненням синергічного ефекту.

Цей огляд – спроба систематизації та узагальнення відомостей фахової літератури за останні роки щодо методів біологічно орієнтованого синтезу ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадиазолів, що стануть основою для створення оригінальних лікарських засобів та можливістю для їхньої хімічної модифікації.

**4. Антидіуретична активність.** Дві нові серії гібридів 1,3,4-оксадиазолбензолсульфонамідів розробили та синтезували для оцінювання їхнього потенціалу до інгібування проти різних форм карбоангідрози [20]. Автори застосували стратегію «хвостового підходу» для розроблення ароматичних сульфонамідних каркасів із карбонільним та амідним лінкером [21]. У цьому дослідженні аналізували природу різних замісників на ароматичному кільці, що містить 1,3,4-оксадиазол, для ефективності та селективності щодо однієї ізоформи hCA. У цьому



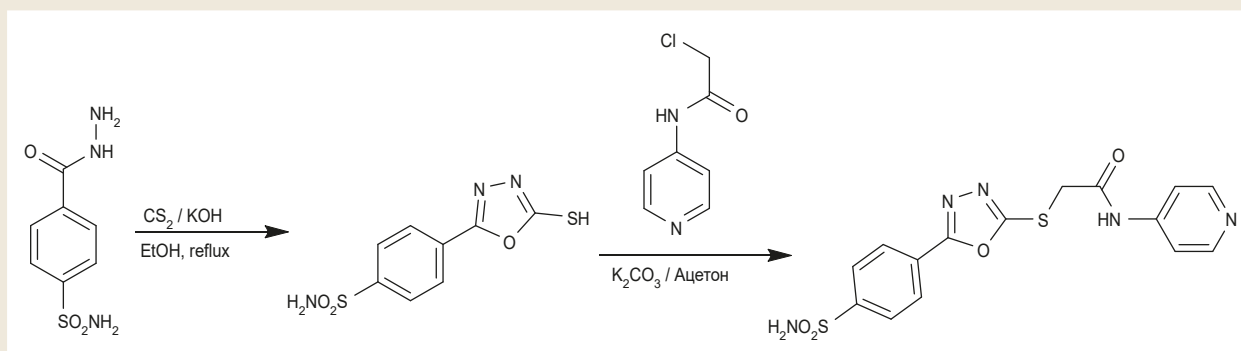


Рис. 1. Синтез нових N-(піридин-4-іл)-2-((5-(4-сульфамойлфеніл)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)ацетамідів.

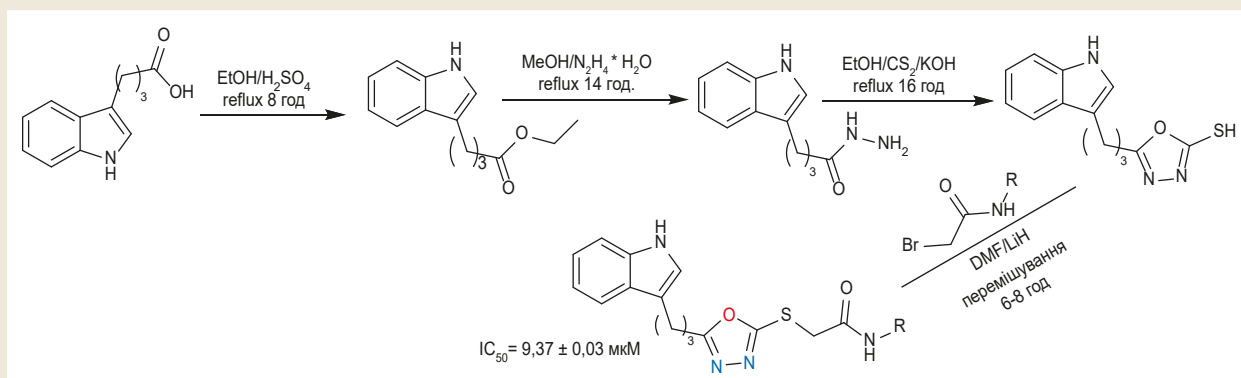


Рис. 2. Синтез нових індолілбутанової кислоти з отриманням N-заміщених похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу.

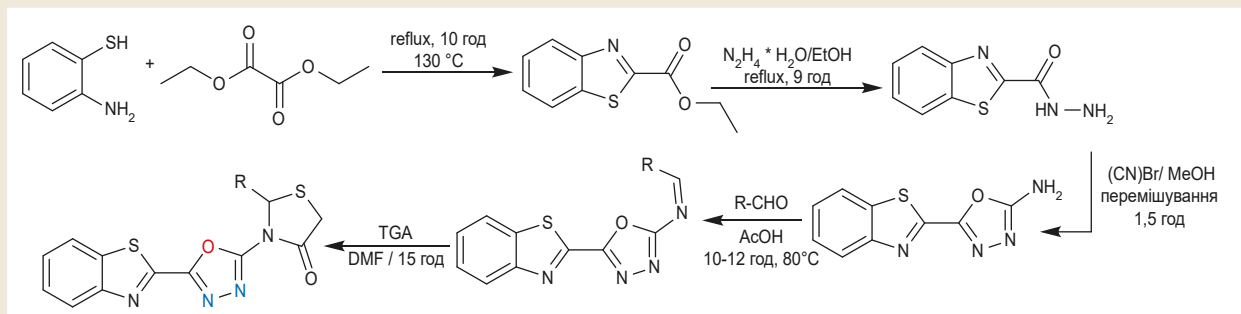


Рис. 3. Синтез нових 2-((2-(2-галогено)окси)феніл)-5-(алкілтіо)-1,3,4-оксадіазолу як потенційних протисудомних засобів.

контексті фармакологічна доцільність 1,3,4-оксадіазолу може бути цінним інструментом, який варто застосовувати для отримання нових і сильних селективних САІ, потенційно корисних для лікування різних захворювань як хіміотерапевтичних засобів (рис. 1).

**5. Антидіабетична активність.** Сучасне дослідження пакистанських учених [22] засноване на послідовному перетворенні індолілбутанової кислоти в індолілбутаногідрозид шляхом хімічних перетворень електрофільних 2-бром-N-феніл/арилацетамідів з нуклеофільними аналогами 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу, щоб отримати ряд N-заміщених похідних 1,3,4-оксадіазол-2-тіолу. Усі синтезовані молекули автори перевірили на наявність протидіабетичного потенціалу шляхом інгібування ферменту  $\alpha$ -глюкозидази, здійснили дослідження *in silico*; на підставі гемолітичної активності підтверджено їхню

низьку цитотоксичність. З цього дослідження можна зробити висновок, що ці молекули можуть бути сильними протидіабетичними засобами (рис. 2).

У пошуках потенційних протидіабетичних засобів синтезували [23] серію нових гібридних аналогів бензотіазол-1,3,4-оксадіазол-4-тіазолідинону (рис. 3). Сім обраних сполук із найкращими показниками докінту перевірили на антигіперглікемічну ефективність *in vivo* за допомогою перорального тесту на толерантність до глюкози у недіабетичних щурів і на моделях діабетичних щурів, індукованих стрептозотоцином. Усі сполуки спричинили відмінне або помірне зниження рівня глюкози у крові; похідні показали кращу інгібуючу активність щодо  $\alpha$ -глюкозидази навіть більше, ніж стандартна акарбоза –  $IC_{50} = 0,21 \pm 0,01$  мкМ. Отже, ці нові гібриди можуть бути потенційними кандидатами на те, щоб стати лідерами для

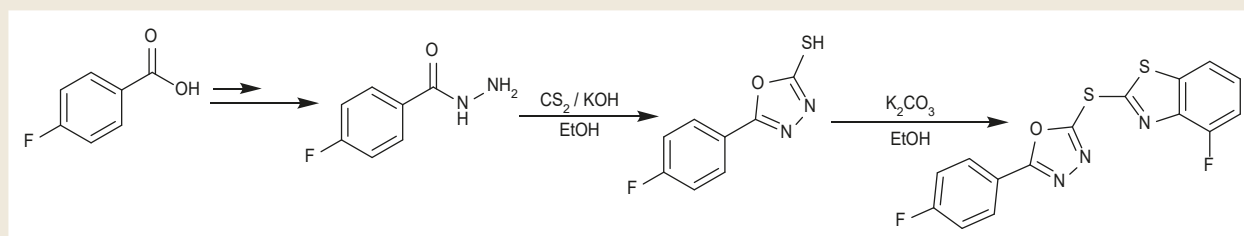


Рис. 4. Синтез нових 2-((4-флуоробензо[d]тіазол-2-іл)тіо)-5-(4-флуорофеніл)-1,3,4-оксадіазолів.

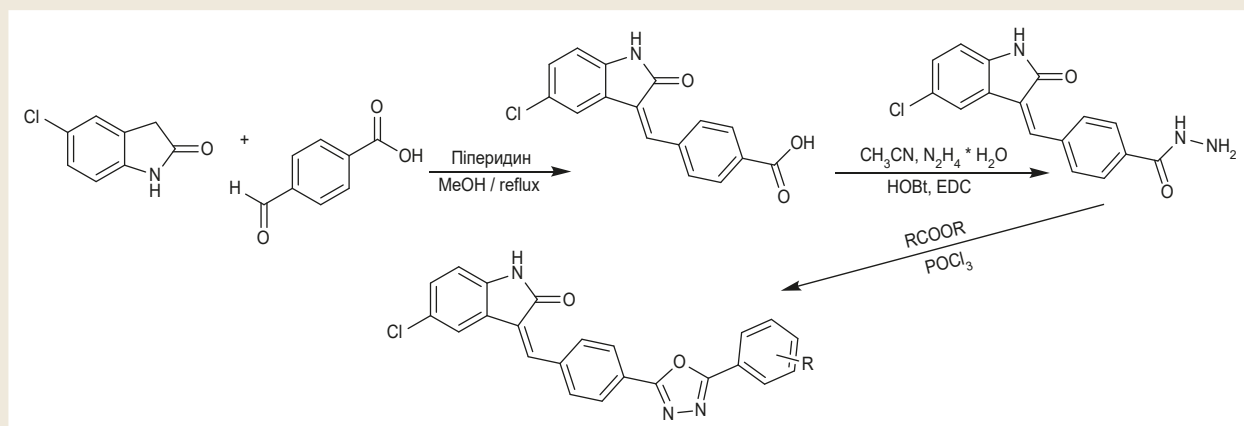


Рис. 5. Синтез нових гібридів оксоіндолу з 1,3,4-оксадіазолом.

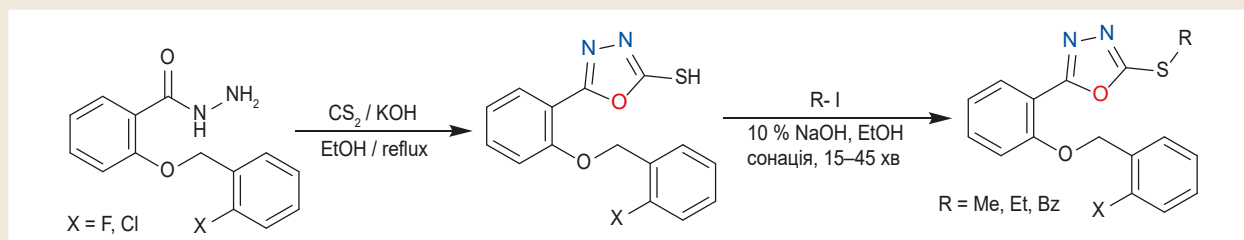


Рис. 6. Синтез нових 2-((2-(галогено)окси)феніл)-5-(алкілтіо)-1,3,4-оксадіазолу як потенційних протисудомних засобів.

розроблення нових ліків, що викликають антигіперглікемічний ефект при пероральному прийманні.

Цукровий діабет і туберкульоз – хронічні захворювання, що сильно вражають людство [24]. У світі 422 млн дорослих страждають на цукровий діабет, реєструють 2 мільйони смертей від туберкульозу. Бібліотека аналогів меркаптооксадіазолу синтезована циклізацією бензогідразиду з наступним нуклеофільним алкілюванням/арилуванням. Деякі сполуки показали кращу проти-діабетичну активність із 62 % інгібуючої дії. Експериментальні дані свідчать, що сполука-лідер – найбільш помітний нетоксичний лікарський засіб із подовженою туберкульозною та антидіабетичною активністю (рис. 4).

Інгібування  $\alpha$ -глюкозидази – ефективна стратегія для контролю гіперглікемії в пацієнтів із цукровим діабетом [25]. Інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази також використовують як засоби проти ожиріння та противірусні препарати. Беручи до уваги більшу важливість інгібіторів  $\alpha$ -глюкозидази у цьому дослідженні, автори представили синтез гібридних аналогів оксадіазолів на основі оксоіндолу. Усі

сполуки – потужні інгібітори ферменту зі значеннями  $IC_{50}$  у діапазоні від  $1,25 \pm 0,05$  до  $268,36 \pm 4,22$  мкМ (рис. 5).

**6. Протисудомна активність.** Afshin Z. et al. [26] синтезували похідні 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів із метильними, етильними та бензильними радикалами з вираженою протисудомною активністю (рис. 6).

Синтезовані сполуки дослідили для оцінювання як протисудомних засобів за допомогою якісних аналізів із використанням тестів MES (максимальним електрошоком) і PTZ (пентилентетразолом). Перший аналіз передбачає індукцію судом електричним шляхом, у рамках другого індукція судом здійснюється хімічним шляхом. Сполука, що має фтор-замісник в ортоположенні бензілоксигрупи, показала найкращу протисудомну активність у моделях PTZ і MES.

Індійські вчені [27] запропонували шлях синтезу гібридів 1,3,4-оксадіазолу з піперидином (рис. 7). З-поміж них три сполуки показали значущу протисудомну активність, спричинену пентилентетразолом (scPTZ). У мишей, що попередньо отримали досліджені сполуки, не спостері-

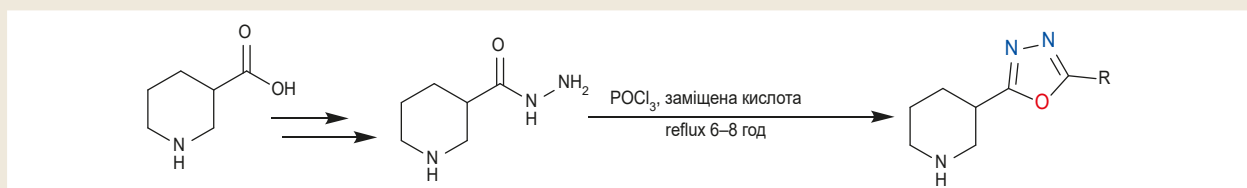


Рис. 7. Синтез нових 2-R-5-(піперидин-3-іл)-1,3,4-оксадіазол.

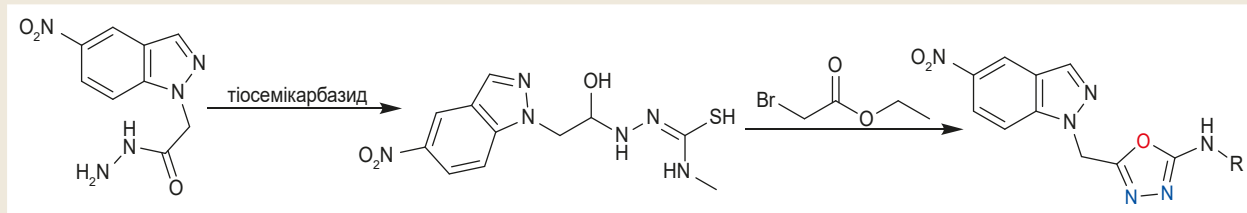


Рис. 8. Синтез нових антипіретичних засобів, похідних індазолу.

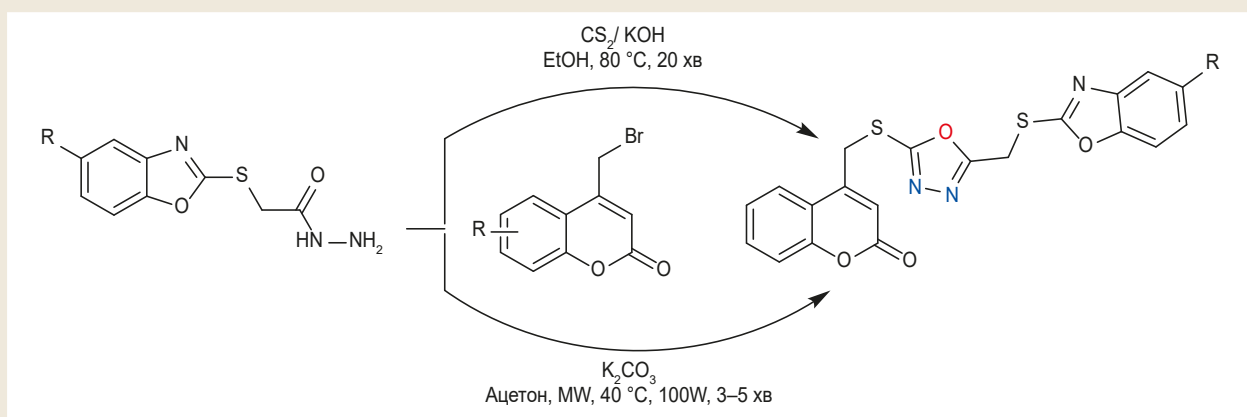


Рис. 9. «Зелений» синтез нових 4-(((5-(((5-метилбензо[d]оксазол-2-іл)тіо)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)метил)-2H-хромен-2-онів.

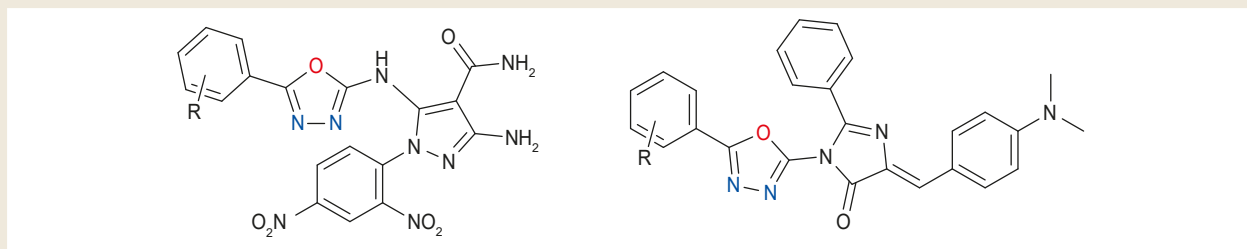


Рис. 10. Протипаразитарні засоби похідні 1,3,4-оксадіазолу.

гали порушення координації рухів. Похідні також мали виражену антидепресивну активність, позбавлену серотонінергічної аугментації, що оцінювали за допомогою тесту плавання.

**7. Антипіретична активність.** Shepta C. et al. [28] синтезували серію з 2-(5'-нітроіндазол-1'-метил)-5-(бромофеніламіно)-1,3,4-оксадіазолів. Усі сполуки характеризувалися сильною жарознижувальною дією, що подібна до ацетилсаліцилової кислоти (рис. 8).

Індійські вчені [29] показали «зелену» процедуру синтезу нових 4-(((5-(((5-метилбензо[d]оксазол-2-іл)тіо)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)метил)-2H-хромен-2-онів. Аналіз синтезованих сполук показав, що вони мають

ідентичні конформації до надзвичайно селективного інгібітора ЦОГ-2. Під час біологічних досліджень з'ясували, що сполуки – найбільш ефективні та селективні ЦОГ-2 інгібітори (на відміну від мефенамінової кислоти). Зауважимо: сполуки, що були активними до інгібітора ЦОГ-2, також були активними як антиоксиданти (рис. 9).

**8. Протипаразитарні засоби.** Patel K. et al. [30] описали синтез та антигельмінтну активність серії 1,3,4-оксадіазолів (рис. 10). Біологічне оцінювання здійснили проти дощових черв'яків (*Perituma posthuma*) у сольовому розчині з використанням альбендазолу як референтного препарату. Час паралічу та смерті визначали як час, необхідний для того, щоб дощові черв'яки стали нерухомими

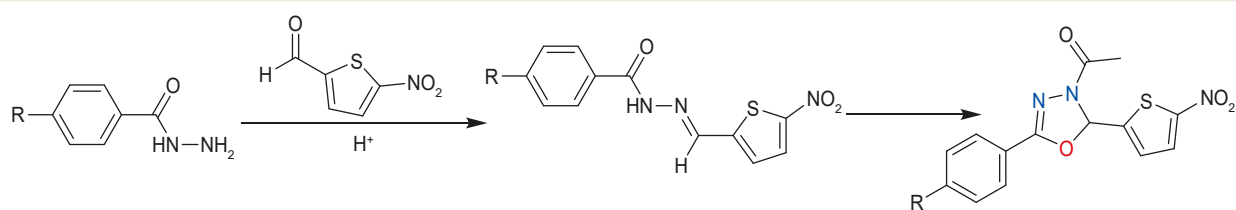


Рис. 11. Синтез протипаразитарних засобів у ряду 1-(2-(5-нітротіофен-2-іл)-5-(4R-феніл)-1,3,4-оксадіазол-3(2H)-іл)етан-1-онів.

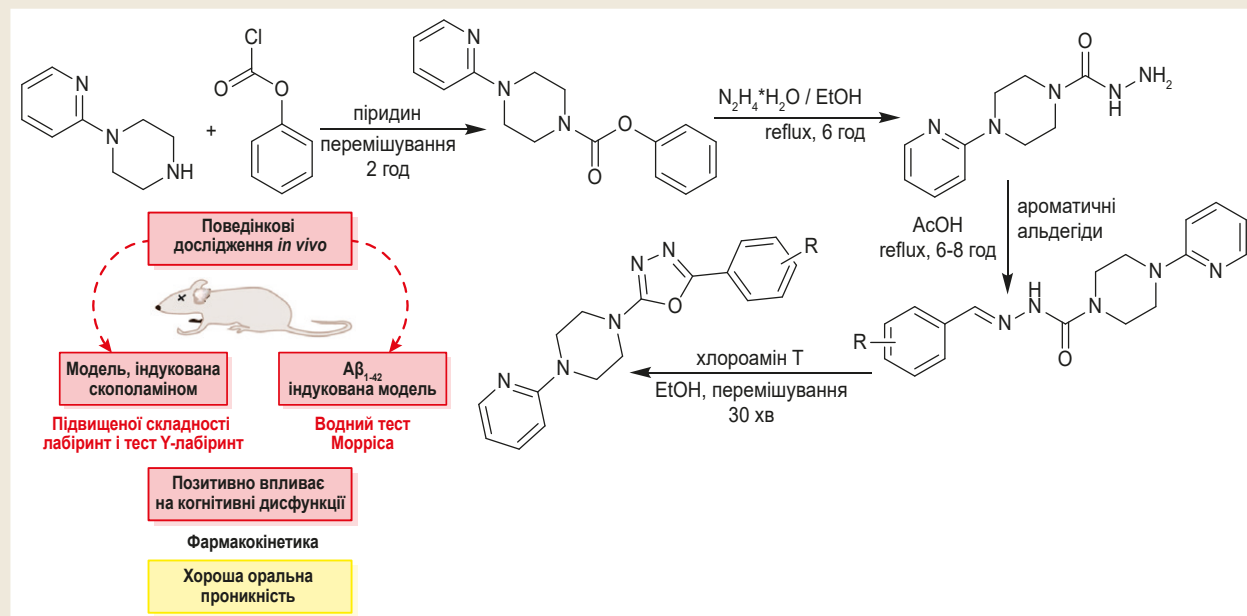


Рис. 12. Синтез молекулярних гібридів 2-піридилпіперазину та 5-феніл-1,3,4-оксадіазолів як потенційних багатофункціональних засобів для лікування хвороби Альцгеймера.

та були інертними до зовнішніх подразників. Сполуки показали більший час паралічу порівняно з тим, що зареєстрований для стандартного препарату.

Бразильські вчені [31] виявили: нітрогеновмісні гетероциклічні молекули, що містять фармакофор 1,3,4-оксадіазолу, активні проти трипаносоматидів (*T. cruzi*) (рис. 11). Антитрипаносому активність визначали щодо епімастиготних форм *T. cruzi* (штам Y) разом із референтним препаратом бензнідазолом. Значення  $IC_{50}$  показали, що всі молекули – сильні інгібітори. Найсильніше похідне мало значення  $IC_{50} = 7,91$  мкмоль/л проти *T. cruzi*, що істотно перевершувало референс-препарат.

**9. Лікування хвороби Альцгеймера.** Природа хвороби Альцгеймера спонукає дослідників розробляти багатофункціональні засоби. Індійські вчені [32] синтезували молекулярні гібриди 2-піридилпіперазину з 5-феніл-1,3,4-оксадіазолами (рис. 12). Біологічна активність синтезованих сполук свідчить про істотний і збалансований інгібуєчий потенціал щодо цільових ферментів. Показали також витіснення пропідій йодиду з периферичного аніонного сайту (PAS) hAChE, чудову проникність гематоенцефалічного бар'єра в паралельному аналізі проникнення штучної мембрани (PAMPA) та нейропротекторну здатність проти нейробластоми клітин

SH-SY5Y лінії. Ба більше, поведінкові дослідження *in vivo*, що виконані в лабіринтах для щурів, показали покращення навчання та пам'яті при когнітивних дисфункціях, індукованих скополаміном. Дослідження *ex vivo* показали зниження активності AChE та антиоксидантного потенціалу сполуки з можливістю перорального всмоктування, що підтверджено фармакокінетичними дослідженнями.

## Висновки

1. Проаналізували, узагальнили й систематизували відомості про результати дослідження біологічної активності 1,3,4-оксадіазолів, що дало змогу підтвердити їхній різнобічний фармакологічний і біологічний потенціал.

2. Встановлено, що оксадіазольний скарфолд як основний структурний компонент входить до складу різноманітних біологічно активних сполук, а отже доцільне їх вивчення як перспективної структурної матриці для конструювання лікоподібних молекул.

3. Аналіз викладеного матеріалу підтверджує важливість і реальну перспективу біологічно орієнтованого синтезу ліків цього сегмента хімії азотовмісних гетероциклів.



**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

**Відомості про авторів:**

Карпенко Ю. В., канд. хім. наук, асистент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-4390-9949](https://orcid.org/0000-0002-4390-9949)

Куліш С. М., канд. фарм. наук, доцент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0545-993X](https://orcid.org/0000-0003-0545-993X)

Аль Халаф Н. А., канд. фарм. наук, старший викладач каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2915-6055](https://orcid.org/0000-0002-2915-6055)

**Information about authors:**

Karpenko Yu. V., PhD, Teaching Assistant of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kulish S. M., PhD, Associate Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Al Halaf N. A., PhD, Senior Lecturer of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

**Сведения об авторах:**

Карпенко Ю. В., канд. хім. наук, асистент каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кулиш С. Н., канд. фарм. наук, доцент каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Аль Халаф Н. А., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

**Список літератури**

- [1] Карпенко Ю. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Біологічно орієнтований синтез ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (Частина 1). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 2. С. 302-314. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207211>
- [2] Sun S., Jia Q., Zhang Z. Applications of amide isosteres in medicinal chemistry. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2019. Vol. 29, Iss. 18. P. 2535-2550. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.07.033>
- [3] Meanwell N. A. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. *Journal of medicinal chemistry*. 2011. Vol. 54, Iss. 8. P. 2529-2591. <https://doi.org/10.1021/jm1013693>
- [4] Suaifan, G., Mohammed, A. Fluoroquinolones structural and medicinal developments (2013-2018): Where are we now?. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2019. Vol. 27, Iss. 14. P. 3005-3060. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.05.038>
- [5] A review on the development of urease inhibitors as antimicrobial agents against pathogenic bacteria / Y. F. Rego, M. P. Queiroz, T. O. Brito et al. *Journal of advanced research*. 2018. Vol. 13. P. 69-100. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.05.003>
- [6] Синтез та дослідження залежності «структура – гостра токсичність» нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2-тіону з акридин-9(10H)-оном / Ю. В. Карпенко, Л. О. Омеляничик, Т. О. Самура, В. М. Омеляничик. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2018. No. 4. С. 5-13.
- [7] Mani Chandrika K., Sharma S. Promising antifungal agents: A minireview. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2020. Vol. 28, Iss. 7. P. 115398. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115398>
- [8] Antifungal drugs: New insights in research & development / A. M. Nicola, P. Albuquerque, H. C. Paes et al. *Pharmacology & therapeutics*. 2019. Vol. 195. P. 21-38. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.10.008>
- [9] Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach / J. J. P. S. L. Manju, K. R. Ethiraj, G. Elias. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2018. Vol. 121. P. 356-381. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.06.003>
- [10] Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review / M. J. Nanjan, M. Mohammed, B. R. Prashantha Kumar, M. Chandrasekar. *Bioorganic chemistry*. 2018. Vol. 77. P. 548-567. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.02.009>
- [11] Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review / N. Kerru, A. Singh-Pillay, P. Awolade, P. Singh. *European journal of medicinal chemistry*. 2018. Vol. 152. P. 436-488. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.061>
- [12] Quinolone hybrids and their anti-cancer activities: An overview / F. Gao, X. Zhang, T. Wang, J. Xiao. *European journal of medicinal chemistry*. 2019. Vol. 165. P. 59-79. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.017>
- [13] A comprehensive review of topoisomerase inhibitors as anticancer agents in the past decade / X. Liang, Q. Wu, S. Luan et al. *European journal of medicinal chemistry*. 2019. Vol. 171. P. 129-168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.034>
- [14] 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. *European journal of medicinal chemistry*. 2019. Vol. 183. P. 111700. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111700>
- [15] Campaniço A., Moreira R., Lopes F. Drug discovery in tuberculosis. New drug targets and antimycobacterial agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2018. Vol. 150. P. 525-545. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.020>
- [16] Recent advancement in the discovery and development of COX-2 inhibitors: Insight into biological activities and SAR studies (2008-2019) / V. Sharma, P. Bhatia, O. Alam et al. *Bioorganic chemistry*. 2019. Vol. 89. P. 103007. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103007>
- [17] Silva V., Elguero J., Silva A. Current progress on antioxidants incorporating the pyrazole core. *European journal of medicinal chemistry*. 2018. Vol. 156. P. 394-429. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.007>
- [18] De S. S., Khambete M. P., Degani M. S. Oxadiazole scaffolds in anti-tuberculosis drug discovery. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2019. Vol. 29, Iss. 16. P. 1999-2007. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.06.054>
- [19] Synthesis of some new biologically active N-substituted-2''-[(phenylsulfonyl)piperidin-1-yl]amino]acetamide derivatives / H. Khalid, A. U. Rehman, M. A. Abbasi et al. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2014. Vol. 27, Iss. 3. P. 517-524.
- [20] Vaidya A., Pathak D., Shah K. 1,3,4-oxadiazole and its derivatives: A review on recent progress in anticancer activities. *Chemical biology & drug design*. 2021. Vol. 97, Iss. 3. P. 572-591. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13795>
- [21] Synthesis, antimicrobial and anti-HIV activity of some novel benzenesulfonamides bearing 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazole moiety / R. Iqbal, M. Zareef, S. Ahmed et al. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2006. Vol. 53, Iss. 3. P. 689-696. <https://doi.org/10.1002/jccs.200600091>
- [22] New indole based hybrid oxadiazole scaffolds with N-substituted acetamides: As potent anti-diabetic agents / M. Nazir, M. A. Abbasi, Aziz-Ur-Rehman et al. *Bioorganic chemistry*. 2018. Vol. 81. P. 253-263. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.08.010>
- [23] Novel hybrids of benzothiazole-1,3,4-oxadiazole-4-thiazolidinone: Synthesis, in silico ADME study, molecular docking and in vivo anti-diabetic assessment / R. Bhutani, D. P. Pathak, G. Kapoor et al. *Bioorganic chemistry*. 2019. Vol. 83. P. 6-19. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.025>
- [24] Design, synthesis and SAR evaluation of mercaptooxadiazole analogs as anti-tubercular, anti-diabetic and anti-bacterial agents / S. V. Mamatha, M. Bhat, H. K. Kumara et al. *Chemical Data Collections*. 2020. Vol. 26. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100343>
- [25] Oxindole based oxadiazole hybrid analogs: Novel α-glucosidase inhibitors / M. Taha, S. Imran, F. Rahim et al. *Bioorganic chemistry*. 2018. Vol. 76. P. 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.001>
- [26] Design and synthesis of new 2-substituted-5-[2-(2-halobenzyloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles as anticonvulsant agents / A. Zarghi, Z. Hajimahi, S. Mohebbi et al. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2008. Vol. 56, Iss. 4. P. 509-512. <https://doi.org/10.1248/cpb.56.509>
- [27] Synthesis and pharmacological evaluation of 3-[5-(aryl-[1,3,4]oxadiazole-2-yl)]piperidine derivatives as anticonvulsant and antidepressant agents / R. B. Singh, N. Das, G. K. Singh et al. *Arabian*

- Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 13, Iss. 5. P. 5299-5311. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.03.009>
- [28] Enhanced antipyretic activity of new 2, 5-substituted 1, 3, 4-oxadiazoles encapsulated in alginate/gelatin particulated systems / C. Cheptea, V. Şunel, M. Holban et al. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2012. Vol. 46, No. 1-2. P. 19-25.
- [29] Green synthesis of therapeutically active 1,3,4-oxadiazoles as antioxidants, selective COX-2 inhibitors and their in silico studies / A. R. Nesaragi, R. R. Kamble, S. Dixit et al. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2021. Vol. 43. P. 128112. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128112>
- [30] Pitasse-Santos P., Sueth-Santiago V., Lima M. E. F. 1,2,4- and 1,3,4-oxadiazoles as scaffolds in the development of antiparasitic agents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2018. Vol. 29, Iss. 3. P. 435-456. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170208>
- [31] Synthesis, molecular modeling and preliminary biological evaluation of a set of 3-acetyl-2,5-disubstituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole as potential antibacterial, anti-Trypanosoma cruzi and antifungal agents / M. Ishii, S. D. Jorge, A. A. de Oliveira et al. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2011. Vol. 19, Iss. 21. P. 6292-6301. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.09.009>
- [32] Design and development of molecular hybrids of 2-pyridylpiperazine and 5-phenyl-1,3,4-oxadiazoles as potential multifunctional agents to treat Alzheimer's disease / A. Tripathi, P. K. Choubey, P. Sharma et al. *European journal of medicinal chemistry*, 2019183, 111707. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111707>
- ### References
- [1] Karpenko, Yu. V., Panasenko, O. I., & Knysh, Ye. H. (2020). Biologichno orientovanyi syntez likiv (BIODS) na osnovi heterilpokhidnykh 2,5-dyzamishchenykh 1,3,4-oksadiazoliv (Chastyna 1) [Biologically oriented synthesis of medicines (BIODS) based on heterilpoxid 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles (Part 1)]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 13(2), 302-314. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207211>
- [2] Sun, S., Jia, Q., & Zhang, Z. (2019). Applications of amide isosteres in medicinal chemistry. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 29(18), 2535-2550. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.07.033>
- [3] Meanwell N. A. (2011). Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. *Journal of medicinal chemistry*, 54(8), 2529-2591. <https://doi.org/10.1021/jm1013693>
- [4] Suaifan, G., & Mohammed, A. (2019). Fluoroquinolones structural and medicinal developments (2013-2018): Where are we now?. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 27(14), 3005-3060. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.05.038>
- [5] Rego, Y. F., Queiroz, M. P., Brito, T. O., Carvalho, P. G., de Queiroz, V. T., de Fátima, Á., & Macedo, F., Jr (2018). A review on the development of urease inhibitors as antimicrobial agents against pathogenic bacteria. *Journal of advanced research*, 13, 69-100. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.05.003>
- [6] Karpenko, Y. V., Omelyanchik, L. O., Samura, T. A., & Omelyanchik, V. N. (2018). Syntez ta doslidzhennia zalezhnosti «struktura – hostra toksychnist» novykh hibrydiv 1,3,4-oksadiazol-2-ionu z akrydyn-9(10H)-onom [Synthesis and study of the «acute toxicity vs. structure» dependence of new hybrid 1,3,4-oxadiazole-2-thione with acridine-9(10H)-one]. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*, (4), 5-13. [in Ukrainian].
- [7] Mani Chandrika, K., & Sharma, S. (2020). Promising antifungal agents: A minireview. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 28(7), 115398. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115398>
- [8] Nicola, A. M., Albuquerque, P., Paes, H. C., Fernandes, L., Costa, F. F., Kioshima, E. S., Abadio, A., Bocca, A. L., & Felipe, M. S. (2019). Antifungal drugs: New insights in research & development. *Pharmacology & therapeutics*, 195, 21-38. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.10.008>
- [9] P, J. J., Manju, S. L., Ethiraj, K. R., & Elias, G. (2018). Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach. *European journal of pharmaceutical sciences*, 121, 356-381. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.06.003>
- [10] Nanjan, M. J., Mohammed, M., Prashantha Kumar, B. R., & Chandrasekar, M. (2018). Thiazolidinediones as antidiabetic agents: A critical review. *Bioorganic chemistry*, 77, 548-567. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.02.009>
- [11] Kerru, N., Singh-Pillay, A., Awolade, P., & Singh, P. (2018). Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 152, 436-488. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.061>
- [12] Gao, F., Zhang, X., Wang, T., & Xiao, J. (2019). Quinolone hybrids and their anti-cancer activities: An overview. *European journal of medicinal chemistry*, 165, 59-79. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.017>
- [13] Liang, X., Wu, Q., Luan, S., Yin, Z., He, C., Yin, L., Zou, Y., Yuan, Z., Li, L., Song, X., He, M., Lv, C., & Zhang, W. (2019). A comprehensive review of topoisomerase inhibitors as anticancer agents in the past decade. *European journal of medicinal chemistry*, 171, 129-168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.034>
- [14] Xu, Z., Zhao, S. J., & Liu, Y. (2019). 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. *European journal of medicinal chemistry*, 183, 111700. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111700>
- [15] Campaniço, A., Moreira, R., & Lopes, F. (2018). Drug discovery in tuberculosis. New drug targets and antimycobacterial agents. *European journal of medicinal chemistry*, 150, 525-545. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.020>
- [16] Sharma, V., Bhatia, P., Alam, O., Javed Naim, M., Nawaz, F., Ahmad Sheikh, A., & Jha, M. (2019). Recent advancement in the discovery and development of COX-2 inhibitors: Insight into biological activities and SAR studies (2008-2019). *Bioorganic chemistry*, 89, 103007. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103007>
- [17] Silva, V., Elguero, J., & Silva, A. (2018). Current progress on antioxidants incorporating the pyrazole core. *European journal of medicinal chemistry*, 156, 394-429. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.007>
- [18] De, S. S., Khambete, M. P., & Degani, M. S. (2019). Oxadiazole scaffolds in anti-tuberculosis drug discovery. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 29(16), 1999-2007. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.06.054>
- [19] Khalid, H., Rehman, A. U., Abbasi, M. A., Siddiqui, S. Z., Malik, A., Ashraf, M., Ahmad, I., & Ejaz, S. A. (2014). Synthesis of some new biologically active N-substituted-2'-[(phenylsulfonyl)(piperidin-1-yl)amino]acetamide derivatives. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(3), 517-524.
- [20] Vaidya, A., Pathak, D., & Shah, K. (2021). 1,3,4-oxadiazole and its derivatives: A review on recent progress in anticancer activities. *Chemical biology & drug design*, 97(3), 572-591. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13795>
- [21] Iqbal, R., Zareef, M., Ahmed, S., Zaidi, J. H., Arfan, M., Shafique, M., & Al-Masoudi, N. A. (2006). Synthesis, antimicrobial and anti-HIV activity of some novel benzenesulfonamides bearing 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazole moiety. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 53(3), 689-696. <https://doi.org/10.1002/jccs.200600091>
- [22] Nazir, M., Abbasi, M. A., Aziz-Ur-Rehman, Siddiqui, S. Z., Khan, K. M., Kanwal, Salar, U., Shahid, M., Ashraf, M., Arif Lodhi, M., & Ali Khan, F. (2018). New indole based hybrid oxadiazole scaffolds with N-substituted acetamides: As potent anti-diabetic agents. *Bioorganic chemistry*, 81, 253-263. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.08.010>
- [23] Bhutani, R., Pathak, D. P., Kapoor, G., Husain, A., & Iqbal, M. A. (2019). Novel hybrids of benzothiazole-1,3,4-oxadiazole-4-thiazolidinone: Synthesis, in silico ADME study, molecular docking and in vivo anti-diabetic assessment. *Bioorganic chemistry*, 83, 6-19. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.025>
- [24] Mamatha, S. V., Bhat, M., Kumara, H. K., Channe Gowda, D., Tirukoti, M., & Meenakshi, S. K. (2020). Design, synthesis and SAR evaluation of mercaptooxadiazole analogs as anti-tubercular, anti-diabetic and anti-bacterial agents. *Chemical Data Collections*, 26. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100343>
- [25] Taha, M., Imran, S., Rahim, F., Wadood, A., & Khan, K. M. (2018). Oxindole based oxadiazole hybrid analogs: Novel α-glucosidase inhibitors. *Bioorganic chemistry*, 76, 273-280. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.001>
- [26] Zarghi, A., Hajimahdi, Z., Mohebbi, S., Rashidi, H., Mozaffari, S., Sarraf, S., Faizi, M., Tabatabaee, S. A., & Shafiee, A. (2008). Design and synthesis of new 2-substituted-5-[2-(2-halobenzoyloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles as anticonvulsant agents. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 56(4), 509-512. <https://doi.org/10.1248/cpb.56.509>
- [27] Singh, R. B., Das, N., Singh, G. K., Singh, S. K., & Zaman, K. (2020). Synthesis and pharmacological evaluation of 3-[5-(aryl)-[1,3,4]oxadiazole-2-yl]-piperidine derivatives as anticonvulsant and antidepressant agents. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(5), 5299-5311. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.03.009>

- [28] Cheptea, C., Şunel, V., Holban, M., Desbrières, J., Popa, M., & Lionte, C. (2012). Enhanced antipyretic activity of new 2, 5-substituted 1, 3, 4-oxadiazoles encapsulated in alginate/gelatin particulated systems. *Cellulose Chemistry and Technology*, 46(1-2), 19-25.
- [29] Nesaragi, A. R., Kamble, R. R., Dixit, S., Kodasi, B., Hoolageri, S. R., Bayannavar, P. K., Dasappa, J. P., Vootla, S., Joshi, S. D., & Kumbhar, V. M. (2021). Green synthesis of therapeutically active 1,3,4-oxadiazoles as antioxidants, selective COX-2 inhibitors and their in silico studies. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 43, 128112. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128112>
- [30] Pitasse-Santos, P., Sueth-Santiago, V., & Lima, M. E. F. (2018). 1,2,4- and 1,3,4-oxadiazoles as scaffolds in the development of antiparasitic agents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(3), 435-456. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20170208>
- [31] Ishii, M., Jorge, S. D., de Oliveira, A. A., Palace-Berl, F., Sonehara, I. Y., Pasqualoto, K. F., & Tavares, L. C. (2011). Synthesis, molecular modeling and preliminary biological evaluation of a set of 3-acetyl-2,5-disubstituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole as potential antibacterial, anti-*Trypanosoma cruzi* and antifungal agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 19(21), 6292-6301. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.09.009>
- [32] Tripathi, A., Choubey, P. K., Sharma, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Tripathi, M. K., Prajapati, S. K., Krishnamurthy, S., & Shrivastava, S. K. (2019). Design and development of molecular hybrids of 2-pyridylpiperazine and 5-phenyl-1,3,4-oxadiazoles as potential multifunctional agents to treat Alzheimer's disease. *European journal of medicinal chemistry*, 183, 111707. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111707>