



Пошук молекулярних дескрипторів і комп'ютерний прогноз біологічної активності в ряду S-похідних (1,2,4-тріазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідинів

Ю. В. Карпенко¹, О. І. Панасенко², А. П. Літун³

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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

Більшість фармацевтичних сполук взаємодіють з численними молекулярними композиціями в організмі, що призводить до складних профілів їхніх біологічних ефектів. Крім того, під час біотрансформації в організмі людини вони віддають перевагу одному або декільком метаболітам, що мають найпотужніші біоактивні властивості. Отже, розвиток і раціональне застосування нових ліків потребує ретельного вивчення профілів їхнього біологічного впливу, враховуючи особливості перебігу метаболічних процесів у людини. Нині методи *in silico* є поширеними для оцінювання взаємодії нових препаратів-кандидатів із фармакологічними умовами та для прогнозування їх метаболічних перетворень. Для визначення шляхів дослідження біоактивності сполук на основі структур 1,2,4-тріазол-3(2H)-тіону з піримідин-2-тіолом створено комбінаторну бібліотеку біорегуляторів за допомогою комп'ютерних програм SuperPred, SwissADME. Актуальність дослідження полягає у пошуку нових високоефективних і малотоксичних біомолекул серед природних і синтетичних сполук. Ці дослідження спрямовані передусім на азотовмісні гетероцикли, зокрема на похідні 1,2,4-тріазолу, що мають істотний медико-біологічний потенціал.

Мета роботи – сформувати комбінаторну бібліотеку біорегуляторів, яка містить у собі структури 1,2,4-тріазолу та піримідину, та провести *in silico* скринінг похідних гетероциклів за допомогою вебсервера SuperPred для визначення перспективних напрямів досліджень їхньої біоактивності.

Матеріали і методи. Предметом дослідження є S-похідні (1,2,4-тріазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідинів. Віртуальний скринінг сполук проведено за допомогою комп'ютерної програми SuperPred. Дослідження ADME здійснили за допомогою безкоштовного сервісу SwissADME, який використовують для оцінювання фармакокінетики, біодоступності та взаємодії малих молекул із ферментами у медичній хімії.

Результати. Прогнозування ймовірності прояву конкретних видів біологічної активності речовиною дає змогу визначити, які тести є оптимальними для дослідження біологічної активності певної хімічної речовини, а також які речовини, доступні досліднику, найімовірніше матимуть необхідні ефекти. Це передбачення ґрунтується на принципі, згідно з яким біологічна активність речовини є функцією її біологічної структури. Такий прогноз формують на основі структурної формули хімічної сполуки, він можливий ще на етапі планування синтезу.

Висновки. Створено комбінаторну бібліотеку біорегуляторів, що поєднують структури 1,2,4-тріазол-3(2H)-тіону з піримідин-2-тіолом. Віртуальний скринінг гетероциклу 1,2,4-тріазол-3(2H)-тіону з піримідин-2-тіолом є перспективним для отримання нетоксичних сполук з антинеопластичною біологічною активністю. Скринінг похідних у ряду S-похідних (1,2,4-тріазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідинів засвідчив перспективність пошуку біологічно активних речовин з антинеопластичною, антибактеріальною, анальгетичною, протидіабетичною активністю, антигіпертонічними засобами, а також речовин з іншими видами біологічної дії серед цього ряду сполук.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, піримідин, S-похідні, біологічна активність, антигіпертонічні засоби.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 5-9

Search for molecular descriptors and computer prediction of biological activity in a series of S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methylthiopyrimidines

Yu. V. Karpenko, O. I. Panasenko, A. P. Litun

Most pharmaceutical compounds interact with various molecular compositions in the body, leading to complex biological effects. Furthermore, during biotransformation, they may generate one or more metabolites with potent bioactive properties. Therefore, the development and careful use of new medications require thorough examination of their biological impact profiles, including considerations of human metabolic processes. *In silico* techniques are currently widely used to evaluate the interactions of emerging drug candidates with pharmacological conditions and predict their metabolic conversions. To investigate the bioactivity of compounds based on the structure of 1,2,4-triazole-3(2H)-thione

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/298027>

UDC 615.2.015.4.012.1:547.793
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.298027

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):5-9

Keywords: 1,2,4-triazole, pyrimidine, S-derivatives, biological activity, antihypertensive agents.

*E-mail: karpenko.y.v@gmail.com

Received: 22.12.2023 // Revised: 08.01.2024 // Accepted: 25.01.2024

with pyrimidine-2-thiol, we generated a combinatorial library of bioregulators using the computer programs SuperPred and SwissADME. The relevance of this research is underscored by the ongoing quest for novel biomolecular compounds that are highly effective yet low in toxicity, spanning both natural and synthetic sources. Much attention is directed towards nitrogen-containing heterocycles, particularly derivatives of 1,2,4-triazole, due to their substantial medical and biological potential.

The aim of the work is to create a combinatorial library of bioregulators, which contains the structures of 1,2,4-triazole and pyrimidine, and to carry out *in silico* screening of heterocycle derivatives using the SuperPred web server to determine promising directions for the study of their bioactivity.

Materials and methods. The subject of our research is S-derivatives of (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methylthiopyrimidines. Virtual screening of compounds was carried out using the SuperPred computer program. The ADME study was performed using the free service SwissADME, which is used to evaluate the pharmacokinetics, bioavailability, and interaction of small molecules with enzymes in medicinal chemistry.

Results. Predicting the likelihood of a substance demonstrating a particular biological activity enables the selection of the most appropriate tests for studying the activity of a given chemical compound, as well as identifying which substances available to the researcher are most likely to enhance the effectiveness of the effects. This principle is grounded in the concept that "the biological activity of a substance is a function of its chemical structure". Such predictions are generated based on the structural formula of a chemical compound and can be made during the planning stage of synthesis.

Conclusions. A combinatorial library of bioregulators was created by combining the structure of 1,2,4-triazole-3(2*H*)-thione with pyrimidine-2-thiol. The conducted virtual screening of the 1,2,4-triazole-3(2*H*)-thione heterocycle with pyrimidine-2-thiol shows promise for obtaining non-toxic compounds with antineoplastic biological activity. Screening of derivatives, particularly S-derivatives of (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methylthiopyrimidines, indicates the potential for discovering biologically active substances with antineoplastic, antibacterial, analgesic, antidiabetic, antihypertensive, and other types of biological activities within this compound series.

Keywords: 1,2,4-triazole, pyrimidine, S-derivatives, biological activity, antihypertensive agents.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):5-9

Одними з ключових факторів, які враховують під час розробки нових ефективних медичних препаратів, є їхня висока специфічність і відсутність небажаних побічних ефектів. Досвід у галузі медичної хімії та фармакології підтверджує, що більшість відомих препаратів не мають абсолютної специфічності дії: крім основних фармакологічних ефектів, що використовують для лікування певних патологій, вони також мають побічні ефекти та можуть бути токсичними.

Пошук нових високоєфективних і малотоксичних біомолекул здійснюють серед і природних, і синтетичних сполук. Ці дослідження спрямовані передусім на азотовмісні гетероцикли, зокрема на похідні 1,2,4-тріазолу, що мають значний потенціал як антимікробні, антималярійні, фунгіцидні та протипаразитарні засоби. Ці похідні також мають анагетичні, нейротропні та протизапальні властивості, вони є протипухлинними, імуномодулювальними засобами, а також відомі як ефективні антиоксиданти та перспективні засоби для лікування вірусу *Herpes*. Крім того, сполуки 1,2,4-тріазолу використовують як пестициди, ветеринарні препарати, барвники та хімічні реагенти [1,2,3].

Особливий інтерес викликає можливість об'єднання структур кількох гетероциклів в одній молекулі, наприклад 1,2,4-тріазолу та піримідину. Це може зумовити посилення біологічної активності таких комбінованих сполук або виникнення нових властивостей.

Відомо, що похідні (1,2,4-тріазол-3(2*H*)-іл)метилтіопіримідинів мають антиконвульсивну дію, їх застосовують під час лікування розладів нервової системи [4].

Мета роботи

Сформувані комбінаторну бібліотеку біорегуляторів, яка містить у собі структури 1,2,4-тріазолу та піримідину (1–16), та провести *in silico* скринінг похідних

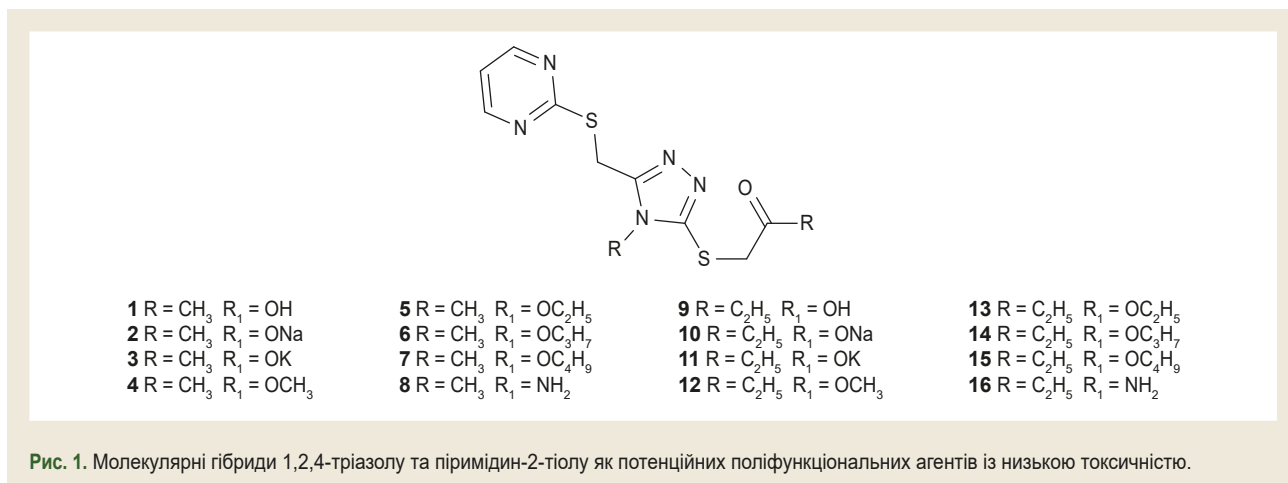
гетероциклів за допомогою вебсервера SuperPred для визначення перспективних напрямів досліджень їхньої біоактивності.

Матеріали і методи дослідження

Предмет дослідження – S-похідні (1,2,4-тріазол-3(2*H*)-іл)метилтіопіримідинів (рис. 1, 1–16), які були попередньо синтезовані за відомими методиками [5].

Віртуальний скринінг сполук здійснили за допомогою комп'ютерної програми SuperPred, комп'ютерна система якої за структурною формулою хімічної речовини прогнозує більше ніж 2048 видів біологічної активності [6]. Оригінальний метод передбачає коди АТС для досліджуваної сполуки, використовуючи двовимірну подібність хімічної структури. SuperPred використовує подібність 2D- та 3D-структури на основі фрагментів. Подібність 2D-структури визначена як подібність Tanimoto Extended Connectivity Fingerprints (ECFP). Тривимірну подібність визначено шляхом структурного накладення, обчисленого для 100 низькоенергетичних конформерів кожної сполуки. Точність передбачення SuperPred становить 75,3 % на п'ятому рівні коду АТС.

Біодоступність. Дослідження ADME здійснили за допомогою безкоштовного сервісу SwissADME [7], який використовують для оцінювання фармакокінетики, біодоступності та взаємодії малих молекул із ферментами у медичній хімії. У цьому інструменті враховують шість фізико-хімічних властивостей: ліпофільність, розмір, полярність, розчинність, гнучкість і насиченість. Кожна з цих властивостей має визначений фізико-хімічний діапазон, який відображений на візуалізації як рожева зона. Для того, щоб молекулу вважали подібною до лікарських речовин, її радіолокаційна ділянка має знаходитись повністю всередині цієї зони.



Результати

Метод прогнозування SuperPred базується на моделях машинного навчання замість загальної структурної подібності. Це дає змогу точно передбачити групи АТС, навіть у випадках, коли лише невеликі частини відповідних структур, наприклад функціональні групи, відповідають за терапевтичний вплив або метаболічні процеси, а отже, за присвоєння певного коду АТС. Завдяки цьому точність передбачення АТС може бути покращена більше ніж на 5 % порівняно з попередньою версією вебсервера.

Прогнозування (терапевтичних) цілей більше не ґрунтується лише на активних зв'язувальних речовинах, а включає також експериментально підтвержені незв'язувальні речовини, які взято з бази даних ChEMBL. Разом із методологією машинного навчання цей дизайн дає змогу набагато точніше оцінювати структурні групи, що беруть участь у процесі зв'язування білка, на додаток до переваги, яку вже надає концентрація на особливостях субструктури, на відміну від загальної структурної подібності. Крім того, попередню функцію оцінювання було замінено набагато більш інтуїтивно зрозумілими значеннями, що легко оцінити з першого погляду.

Порівняння різних підходів до прогнозування ускладнене тим, що немає відомого й поширеного набору

даних АТС. Тому ми доклали зусилля, щоб зібрати й ретельно відібрати набір даних АТС, що підходить для чіткого передбачення кодів АТС, але водночас знижує дискретизацію надто подібних структур. Це забезпечує точніше оцінювання ефективності та дає змогу уникнути переобладнання невідомих наборів даних. Визначений набір даних доступний у додатковому матеріалі, включаючи інформацію про очікувані та прогнозовані коди АТС.

Прогнозування ймовірності прояву конкретних видів біологічної активності речовиною дає змогу визначити, які тести є оптимальними для дослідження біологічної активності певної хімічної речовини, а також які речовини, доступні досліднику, найімовірніше матимуть необхідні ефекти. Це передбачення ґрунтується на принципі, згідно з яким біологічна активність речовини є функцією її біологічної структури [3]. Такий прогноз формують на основі структурної формули хімічної сполуки, він можливий ще на етапі планування синтезу. З усіх можливих варіантів обирають найімовірніші базові структури нових сполук із необхідною біологічною дією, що найбільше відповідає поставленим завданням. За допомогою комп'ютерного прогнозу дослідник може визначити нові ефекти та механізми дії для раніше вивчених речовин [8].

Результати попереднього оцінювання загального біологічного потенціалу сполук наведено в *таблиці 1*.

Таблиця 1. Результати прогнозу біологічної активності деяких S-похідних (1,2,4-тріазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідинів

Назва мішені (механізм дії)	Від біологічної активності	Імовірність	Точність моделі
Cathepsin D	Hypertension [ICD-11: BA00-BA04]	94,0 %	99,0 %
C-X-C chemokine receptor type 4	Melanoma [ICD-11: 2C30]	93,0 %	93,1 %
Adenosine A1 receptor	Cardiac arrhythmias [ICD-11: BC9Z]	87,0 %	96,0 %
GABA-A receptor; alpha-1/beta-3/gamma-2	Anaesthesia [ICD-11: 9A78.6]	76,0 %	95,5 %
Protein-tyrosine phosphatase 2C	Solid tumour/cancer [ICD-11: 2A00-2F9Z]	76,0 %	94,0 %
Adenosine A2b receptor	Alzheimer disease [ICD-11: 8A20]	68,0 %	99,0 %
DNA topoisomerase I	Bacterial infection [ICD-11: 1A00-1C4Z]	68,0 %	97,0 %
Signal transducer and activator of transcription 3	Multiple myeloma [ICD-11: 2A83]	67,0 %	83,0 %
Histone deacetylase 2	Dermatitis [ICD-11: EA80-EA89]	67,0 %	95,0 %
Sodium channel protein type V alpha subunit	Anaesthesia [ICD-11: 9A78.6]	65,0 %	92,5 %

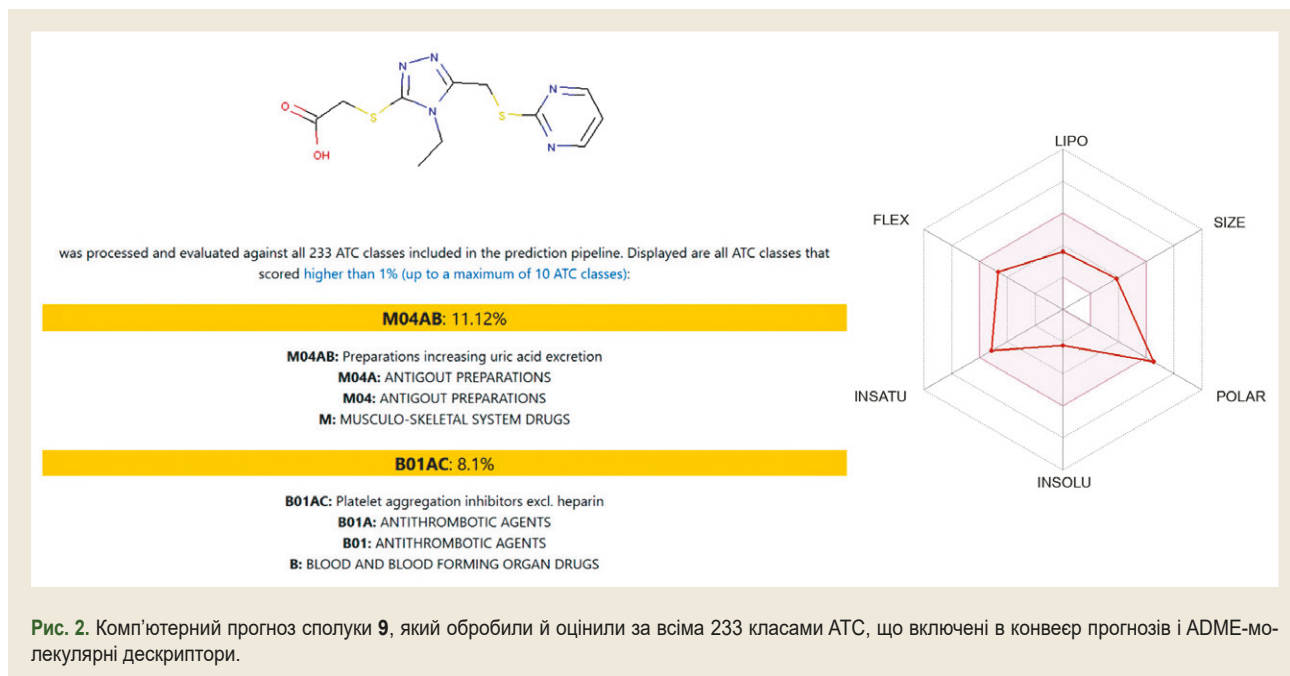


Рис. 2. Комп'ютерний прогноз сполуки 9, який обробили й оцінили за всіма 233 класами АТС, що включені в конвеєр прогнозів і ADME-молекулярні дескриптори.

Обговорення

Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу вказує на перспективність пошуку таких активностей, як антигіпертонічна, антинеопластична, антибактеріальна, анальгетична, протидіабетична тощо, у низці досліджуваних сполук. Важливим аспектом прогнозування є відсутність у цих речовинах високої токсичності, тератогенності, канцерогенності, мутагенності й ембріотоксичності.

На рис. 2 наведено аналіз сполуки 9, який обробили й оцінили за допомогою сервісів SwissAdME, SuperPred. Встановлено, що ця сполука підвищує виведення сечової кислоти, є потенційним інгібітором агрегації тромбоцитів, нестероїдним протизапальним і протиревматичним засобом.

Під час комп'ютерного прогнозування похідних (1,2,4-тріазол-3(2*H*)-іл)метилтіопіримідинів, наведених у таблиці 1, встановлено: заміна йонами натрію чи калію в залишку карбонової кислоти призводить до зменшення прогнозованої активності, але значно підвищує проникність і потенційну токсичність сполуки. Наприклад, внаслідок введення естерного залишку (етилу) спостерігають протидіабетичну активність, а внаслідок введення ізопропілового – протівірусну та протизапальну. Амідкування карбонових кислот призводить до зменшення активності «структури-лідера» та появи нових видів активності (антиноцицептивна, м'язоворелаксуюча та ін.).

Дані комп'ютерного прогнозу підтверджують перспективність пошуку біорегуляторів у цьому напрямі, що можуть мати антинеопластичну, антирадикальну, анальгетичну, протизапальну, діуретичну та інші види біологічної активності.

Висновки

1. Сформовано комбінаторну бібліотеку біорегуляторів, що поєднують структури 1,2,4-тріазол-3(2*H*)-тіону з піримідин-2-тіолом.

2. Проведений віртуальний скринінг гетероциклу 1,2,4-тріазол-3(2*H*)-тіону з піримідин-2-тіолом є перспективним для отримання нетоксичних сполук з антинеопластичною біологічною активністю.

3. Скринінг похідних у ряду *S*-похідних (1,2,4-тріазол-3(2*H*)-іл)метилтіопіримідинів засвідчив перспективність пошуку біологічно активних речовин з антинеопластичною, антибактеріальною, анальгетичною, протидіабетичною активністю, антигіпертонічних засобів, а також речовин з іншими видами біологічної дії серед цього ряду сполук.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Синтез та вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей речовин в ряду азаетероциклів. Створення та стандартизація оригінальних та комбінованих лікарських препаратів на основі похідних азаетероциклів. Розробка та валідація нових методик аналізу лікарських засобів» № держреєстрації 0123U103937 (2023–2028).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Карпенко Ю. В., канд. хім. наук, старший викладач каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4390-9949

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

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет,
Україна.

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

Літун А. П., студентка 6 курсу ОП «Лікувальна справа», Запорізький
державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Information about authors:

Karpenko Yu. V., PhD, Senior Lecturer of the Department of Natural
Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia
State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

Litun A. P., student of the 6th year, Zaporizhzhia State Medical and
Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Panasenko OI, Odyntsova VM, Hotsulia AS. [In silico evaluation of the pharmacodynamic component of the interaction of S-alkyl derivatives of 5-methyl-4-(p-tolyl)-1,2,4-triazole-3-thiol with some biological targets]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023; 16(3):223-30. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2023.3.287510](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.287510)
2. Varynskiy B, Parchenko V, Kaplaushenko A, Panasenko O, Knysht Y. Development and validation of a LC-ESI-MS method for detection of piperidin-1-ium {[5-(2-furyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thio}acetate residues in poultry eggs. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2016;40(3):29-40. doi: [10.1501/Eczfak_0000000586](https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000586)
3. Karpenko YV, Panasenko OI. Search for antibacterial activity in a number of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methyl thio-pyrimidines. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2021;14(2):173-8. doi: [10.14739/2409-2932.2021.2.234565](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.234565)
4. Zazharskiy V, Parchenko M, Parchenko V, Davydenko P, Kulishenko O, Zazharska N. Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-thiols. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2020;6:50-8. doi: [10.32434/0321-4095-2020-133-6-50-58](https://doi.org/10.32434/0321-4095-2020-133-6-50-58)
5. Karpenko YV, Panasenko OI, Kulish SM, Domnich AV. Synthesis and acute toxicity of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methyl thio-pyrimidines. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023;16(2):158-64. doi: [10.14739/2409-2932.2023.2.274586](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.274586)
6. Nickel J, Gohlke BO, Erehman J, Banerjee P, Rong WW, Goede A, et al. SuperPred: update on drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Web Server issue):W26-31. doi: [10.1093/nar/gku477](https://doi.org/10.1093/nar/gku477)
7. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017;7:42717. doi: [10.1038/srep42717](https://doi.org/10.1038/srep42717)
8. Khilkovets A, Karpenko Y, Bigdan O, Parchenko M, Parchenko V. Synthetic and biological aspects of studying the properties of 1,2,4-triazole derivatives. *Scientific Journal of Polonia University*. 2022;51(2):324-31. doi: [10.23856/5138](https://doi.org/10.23856/5138)



In silico дослідження властивостей в ряду 1-алкіл-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилен)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів

Л. І. Кучеренко^{А,С,Е,Ф}, Т. С. Британова^{В,С,Д,Е}, А. С. Гоцуля^{І,Е*}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Похідні 1,2,4-тріазолу відкривають сучасним фахівцям у галузі медичної хімії широкі горизонти для розробки інноваційних лікарських засобів. Використання похідних 1,2,4-тріазолу у фармакологічних дослідженнях ґрунтується на їхній здатності ефективно впливати на біологічні системи та взаємодіяти з молекулярними мішенями. Ці азолі можуть бути спрямовані на регулювання різноманітних фізіологічних процесів, що дає змогу ефективно їх використовувати у лікуванні різних захворювань.

Спрямована модифікація структури похідних 1,2,4-тріазолу відкриває значні можливості у створенні біологічно активних сполук із покращеними властивостями. Це сприяє новим досягненням у сфері фармацевтичних досліджень та розробці нових, ефективних лікарських засобів.

Мета роботи – предиктивне оцінювання фармакологічного потенціалу 1-алкіл-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилен)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів методами *in silico* досліджень.

Матеріали і методи. ADME-аналіз як метод дослідження фізико-хімічних і фармакокінетичних параметрів речовин із використанням онлайн-ресурсу SwissADME. Молекулярний докінг як метод прогнозування та оцінювання взаємодії між молекулою-лігандом і тривимірною структурою цільового білка. Ліганди підготовлені з використанням програм MarvinSketch 6.3.0, Hyper Chem 8 та AutoDockTools-1.5.6, а підготовка ферменту передбачала залучення до роботи програмних продуктів Discovery Studio 4.0 та AutoDockTools-1.5.6. Для безпосереднього молекулярного докінгу використовували програму Vina.

Результати. Виконано прескринінговий аналіз віртуального ряду 1-алкіл-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилен)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів, що є потенційним джерелом одержання біологічно активної речовини. Визначено головні фізико-хімічні характеристики молекул, виявлено загальні фармакокінетичні параметри. Застосувавши програмний інструмент Vina, здійснили аналіз та ідентифікацію амінокислотних залишків, що формують активні центри модельних ферментів. У результаті визначено якість і кількість цих залишків, які взаємодіють із запропонованими лігандами. Відповідно до результатів досліджень, найвищу афінність спостерігають до ланостерол 14 α -деметилази. Враховуючи результати аналізу утворених комплексів досліджуваних лігандів із циклооксигеназою-2 та кіназою анапластичної лімфоми, ймовірність суттєвого впливу на ці ферменти залишається незначною.

Висновки. Загальний прогноз щодо біодоступності у разі перорального застосування лікарських форм із досліджуваними речовинами є сприятливим. Фармакодинамічні *in silico* дослідження дають змогу ідентифікувати 1-гептил- та 1-октил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилен)аміно)-1,2,4-тріазолій броміди як потенційні протигрибкові агенти, що обґрунтовано можуть бути залучені до наступних поглиблених досліджень цього виду активності.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, дизайн, ADME-аналіз, молекулярне моделювання.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 10-16

In silico study of properties in the series of 1-alkyl-4-(((5-nitrofuranyl)methylene)amino)-1,2,4-triazole halides

L. I. Kucherenko, T. S. Brytanova, A. S. Hotsulia

1,2,4-Triazole derivatives open up wide horizons for modern medicinal chemists to develop innovative drugs. The use of 1,2,4-triazole derivatives in pharmacological research is based on their ability to produce an effective effect on biological systems and interact with molecular targets. These azoles can be used to regulate various physiological processes, which opens up the possibility of their effective use in the treatment of various diseases.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/297734>

UDC 547.416'792:004.94-047.58
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.297734](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.297734)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):10-16

Keywords: 1,2,4-triazole, design, ADME analysis, molecular modeling.

*E-mail: andrey_goculya@gmail.com

Received: 19.12.2023 // Revised: 08.01.2024 // Accepted: 17.01.2024

Targeted modification of the structure of 1,2,4-triazole derivatives opens up wide opportunities for the creation of biologically active compounds with improved properties, which contributes to further advances in pharmaceutical research and the development of new, effective drugs.

The aim of this work is to predictively assess the pharmacological potential of 1-alkyl-4-(((5-nitrofuranyl)methylene)amino)-1,2,4-triazole halides by *in silico* studies.

Materials and methods. ADME-analysis is a method of studying the physical-chemical and pharmacokinetic parameters of the studied substances using the online resource SwissADME. Molecular docking is a method of predicting and evaluating the interaction between a ligand molecule and the three-dimensional structure of the target protein. The ligands have been prepared with the software MarvinSketch 6.3.0, Hyper Chem 8, and AutoDockTools-1.5.6, whereas the software packages Discovery Studio 4.0 and AutoDockTools-1.5.6 have been used for the preparation of enzymes. The Vina program was used for direct molecular docking.

Results. A prescreening analysis was conducted on a virtual series of 1-alkyl-4-(((5-nitrofuranyl)methylene)amino)-1,2,4-triazole halides, recognized as potential sources of biologically active substances. The study involved determining the main physicochemical characteristics and unveiling general pharmacokinetic parameters of the molecules. The Vina program was employed to identify the nature and number of amino acid residues in the active sites of model enzymes interacting with the proposed ligands. Results indicate the highest affinity for lanosterol 14 α -demethylase. However, the analysis of ligand complexes with cyclooxygenase-2 and anaplastic lymphoma kinase suggests a low probability of a significant effect on these enzymes.

Conclusions. The overall prognosis for bioavailability in the case of oral administration of dosage forms with the investigated substances is favorable. Pharmacodynamics *in silico* studies allow us to identify 1-heptyl- and 1-octyl-4-(((5-nitrofuranyl)methylene)amino)-1,2,4-triazolium bromides as potential antifungal agents that can reasonably be involved in further in-depth studies of this type of activity.

Keywords: 1,2,4-triazole, design, ADME analysis, molecular modeling.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):10-16

Створення біологічно активних сполук на основі нітрогеновмісних гетероциклічних систем є важливим напрямом досліджень у фармацевтичній галузі [1,2,3,4]. Однією з ключових переваг гетероциклічних сполук є їхня здатність до легкої модифікації для одержання специфічних фізико-хімічних і фармакологічних властивостей [5,6,7]. Це дає змогу науковцям оптимізувати структури лікарських засобів для досягнення бажаних параметрів, пов'язаних із терапевтичним ефектом і безпекою лікування [8].

Похідні 1,2,4-тріазолу досить часто привертають увагу дослідників, що пов'язано з різноманіттям фармакологічних ефектів їхніх похідних [5–15]. Обґрунтована функціоналізація похідних цього азолу, наприклад, за результатами попереднього аналізу природи ліганд-рецепторного контакту, дає змогу раціонально вдосконалювати структуру цільового продукту хімічного перетворення [16].

Алкілпохідні 1,2,4-тріазолу та його заміщених систем є об'єктом наукового інтересу фахівців у галузі фармації. Це пов'язано з їхніми унікальними фармакологічними властивостями та потенціалом для розроблення нових лікарських засобів. Серед потенційних видів активності – антимікробна, протигрибкова, антигіпертензивна, протиракова тощо.

Враховуючи поліфармакологічний профіль сполук цього класу та значні можливості органічної хімії в сфері їх створення, цей напрям наукової роботи має всі ознаки актуальності та є перспективним.

Мета роботи

Предиктивне оцінювання фармакологічного потенціалу 1-алкіл-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилена)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів методами *in silico* досліджень.

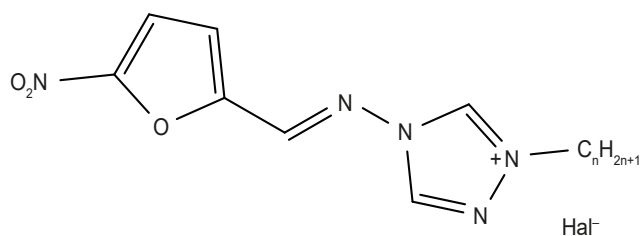
Матеріали і методи дослідження

ADME-дослідження виконали з залученням онлайн-пакета SwissADME, що дало змогу визначити низку фармакокінетичних параметрів, пов'язаних із показниками поглинання, розподілу, метаболізму, виведення досліджуваних сполук. Для здійснення докінг-аналізу 3D-моделей лігандів і рецепторів використали програмний комплекс AutoDockTools. Інформацію щодо структури модельних ферментів взято з бази даних Protein Data Bank (PDB) [17,18,19].

Процес молекулярного докінгу розглядали в контексті трьох послідовних етапів:

- 1) підготовка ліганду:
 - створення структурних формул сполук у форматі *.mol (MarvinSketch 6.3.0);
 - побудова тривимірних моделей речовин, що передбачає використання методу молекулярної механіки MM+, а також напівемпіричний квантово-механічний метод PM3 у поєднанні з алгоритмом Polak-Ribiere, що реалізовані у програмному забезпеченні HyperChem 8;
 - фіксування молекул у форматі *.pdb;
 - трансформація в напрямі *.pdb → *.pdbqt (AutoDockTools-1.5.6);
- 2) підготовчі заходи для активної роботи з ферментом:
 - виключення компонентів, як-от молекул води та ліганду, з модельної структури (Discovery Studio 4.0);
 - збереження конфігурації ферменту в форматі *.pdb;
 - конвертування ферменту в напрямі *.pdb → *.pdbqt (AutoDockTools-1.5.6);
- 3) молекулярний докінг:
 - безпосередня реалізація процесу («Vina»);
 - візуалізаційний аналіз і графічна інтерпретація результату (Discovery Studio 4.0).

Ґрунтовний аналіз наукових публікацій дав змогу визначити цільову групу сполук для здійснення *in silico*



$n = 0$ (1), 1 (2), 2 (3), 3 (4), 4 (5), 5 (6), 6 (7), 7 (8), 8 (9), 9 (10)

Hal: Br (3-10), I (2)

Рис. 1. Загальна будова досліджуваних речовин.

досліджень. Обрали 1-алкіл-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метилен)аміно)-1,2,4-тріазолій галогеніди (рис. 1).

Результати

ADME-аналіз. Частка sp^3 -гібридних атомів Карбону для забезпечення необхідного рівня насиченості має становити не менше ніж 0,25. Цьому критерію відповідає більшість досліджуваних сполук, зокрема сполуки 4–10 (табл. 1). Так само переважна більшість речовин (1–8) за кількісним показником, який пов'язаний з обертовими зв'язками, перебуває в необхідному інтервалі значень, зумовлює необхідну гнучкість молекули та, відповідно, визначає позитивний профіль комплементарності з активним сайтом ферменту. Необхідний інтервал значень, пов'язаний із молярною рефрактерністю (MP), формують усі досліджені структури. Це спостерігають і для топологічної площини полярної поверхні (TPSA), що підтверджує сприятливий прогноз щодо біодоступності в разі перорального застосування.

Ліпофільність визначали, враховуючи дескриптор, який пов'язаний із коефіцієнтом $\log P_{o/w}$. Повнота оцінки цієї властивості досягається залученням різних моделей. Наприклад, модель XLogP3 дала змогу визначити сполуки 8–10 як досить ліпофільні, що може негативно впливати на пероральну біодоступність (табл. 1), а сполуки 2–8 за моделлю WLogP можуть виявитись недостатньо ліпофільними. Натомість моделі iLogP і MLogP демонструють помірний рівень ліпофільності для всіх досліджених сполук. Консенсусний рівень ліпофільності попередньо можна визначити як задовільний (табл. 1).

Останній показник впливав також на здатність подолати фільтри Гозе, Вебера та Мугге: перший – сполуками 2–8, другий – 4–7, третій – 8–10. Порушень при подоланні фільтрів Ліпінського та Егана не виявили (табл. 1).

Додаткове визначення біодоступності за допомогою критеріїв Еббот дало змогу визначити, що досліджувані речовини мають демонструвати всмоктування у шлунково-кишковому тракці шурів на рівні 1/10 від одержаної

доза. Загалом пасивну шлунково-кишкову адсорбцію можна прогнозувати як високу для сполук 1 та 4–10. Здатність до подолання гематоенцефалічного бар'єра характеризується як неможлива для всіх речовин (табл. 1).

Жодна з речовин не має активних попереджень щодо PAINS (Pan-assay interference compounds – сполуки загального аналізу, які можуть чинити перешкоди під час аналітичних досліджень). Так, речовин, що можуть призводити до помилкових результатів під час аналізу, немає. Діапазон значень $\log K_p$ (-4,36 ... -7,69 см/с) вказує на невисоку здатність щодо подолання мембранних бар'єрів (табл. 1). Зауважимо, що подовження карбонового ланцюга дає змогу поліпшити прогноз щодо проникнення сполуки крізь шкіру та збільшує доцільність введення зазначених речовин до складу м'яких лікарських форм.

Можлива належність до Р-глікопротеїнового транспортеру дає уявлення про активний зворотний рух ксенобіотиків крізь мембрану до просвіту судин або шлунково-кишкового тракту. За результатами дослідження, більшість сполук (1–6, 10) не є субстратом для цього глікопротеїну, тому вони, імовірно, створюватимуть необхідну терапевтичну концентрацію в клітинах органа-мішені (табл. 1).

Відповідно до фільтра лікоподібності Бренка, жодна із запропонованих сполук (1–9) не відповідає необхідним критеріям (табл. 1). Насамперед зафіксовані обмеження пов'язані з наявністю груп (нітро- та азометинова групи), що підвищують ймовірність утворення токсичних або високореакційноздатних метаболітів.

Молекулярний докінг. Перший етап докінгових досліджень пов'язаний із визначенням природи взаємодій одержаних лігандів з активним центром циклооксигенази-2 (ЦОГ-2). Сформовані значення утворювали інтервал у межах від -6,9 ккал/моль до -8,8 ккал/моль (табл. 2).

Надалі одержано значення мінімальної енергії комплексоутворення з ланостерол 14 α -деметилазою. Утворений інтервал значень становив від -6,7 ккал/моль до -10,5 ккал/моль (табл. 3).

Таблиця 1. ADME-аналіз досліджуваних сполук

Показник	Сполука									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Csp ³	0,00	0,12	0,22	0,30	0,36	0,42	0,46	0,50	0,53	0,56
ЧОЗ	3	3	4	5	6	7	8	9	10	11
MP	50,54	70,36	70,07	74,88	79,69	84,49	89,30	94,11	98,92	103,72
TPSA, Å ²	102,03	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02
iLogP	0,81	-1,35	-4,29	-3,31	-4,43	-3,18	-3,83	-4,06	-4,15	-3,54
XLogP3	-0,18	2,29	2,70	3,23	3,58	4,13	4,67	5,21	5,75	6,29
WLogP	0,66	-2,90	-2,42	-2,03	-1,64	-1,25	-0,86	-0,47	-0,08	0,31
MLogP	-0,01	0,94	1,09	1,38	1,65	1,92	2,18	2,43	2,68	2,92
SILICOS-IT	-1,36	-1,76	-1,44	-1,10	-0,75	-0,38	-0,01	0,38	0,76	1,16
Log Po/w	-0,02	-0,56	-0,87	-0,37	-0,32	0,25	0,43	0,70	0,99	1,43
Lipinski	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ghose	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
Veber	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Egan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Muegge	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Біо/д	0,55									
ШКА	В	Н	Н	В	В	В	В	В	В	В
ГЕБ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P-гр	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Log Kp, см/с	-7,69	-6,80	-6,31	-6,02	-5,86	-5,55	-5,25	-4,96	-4,66	-4,36
PAINS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Фільтр Бренка	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ЧОЗ: число обортових зв'язків; **MP:** молярна рефрактерність; **Біо/д:** біодоступність; **ШКА:** шлунково-кишкова адсорбція; **В** – висока ШКА; **Н** – низька ШКА; **ГЕБ:** гематоенцефалічний бар'єр; **P-гр:** субстрат Р-глікопротеїнового транспортера; **Log Kp:** логарифмічний показник проникнення через шкіру.

Розрахунки кількісних показників докінгових досліджень доповнені результатами оцінювання можливого впливу на кіназу анапластичної лімфоми. Очікуваний інтервал значень – на рівні від -6,2 ккал/моль до -8,4 ккал/моль (табл. 4).

Обговорення

Докінг 1-(5-нітрофуран-2-іл)-N-(1,2,4-тріазол-4-іл)метанаміну до активного сайту циклооксигенази-2 дав змогу виявити такі типи взаємодій:

1) міжмолекулярний водневий хімічний зв'язок, який утворюється із залишком серину (Ser A: 120) з нітрогрупою фуранового замісника;

2) π -алкіл взаємодія, що формується за допомогою залишку аргініну (Arg A: 121) та 5-нітрофуранового скафолду;

3) вуглецево-воднева взаємодія, утворення якої відбувається за участю залишку тирозину (Tyr A: 116) та 1,2,4-тріазолового синтону;

4) стекінг-взаємодія π -амідної природи, утворення якої пов'язане з залишком гліцину (Gly A: 526) та ароматичної системи азолового фрагмента.

Мінімальне значення енергії, що необхідна для формування комплексу цієї сполуки з активним центром циклооксигенази-2, становило -6,4 ккал/моль. Для порівняння: цей показник для целекоксибу дорівнював -13,4 ккал/моль.

Поява алкільного замісника у структурі досліджуваних молекул супроводжувалась збільшенням гідрофобних взаємодій. Ця зміна очікувано була пов'язана зі збільшенням довжини карбонового ланцюга. Наприклад, 1-пентил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід реалізує свою здатність впливати на зазначений фермент формуванням міжмолекулярного водневого хімічного зв'язку (Ser A: 120 ... нітрогрупа), π -алкільної взаємодії (Arg A: 121 ... 5-нітрофуран), C-H зв'язку (Tyr A: 116 ... 1,2,4-тріазол), π -амід стекінгу (Gly A: 526 ... 1,2,4-тріазол). Додатково

Таблиця 2. Результат молекулярного докінгу досліджуваних сполук до ЦОГ-2

N	E_{min}	N	E_{min}	N	E_{min}	N	E_{min}
1	-6,9	3	-7,5	6	-7,1	9	-8,5
2	-7,6	4	-8,1	7	-8,8	10	-8,2
Целекоксиб	-13,4	5	-8,0	8	-8,2	–	–

E_{min} : оптимальна енергія утворення комплексу в її найменшому значенні, ккал/моль.

Таблиця 3. Результат молекулярного докінгу досліджуваних сполук до ланостерол 14 α -деметилази

N	E_{min}	N	E_{min}	N	E_{min}	N	E_{min}
1	-6,7	3	-8,4	6	-8,2	9	-10,5
2	-7,7	4	-7,6	7	-9,8	10	-9,2
Флуконазол	-10,9	5	-8,5	8	-10,2	–	–

E_{min} : оптимальна енергія утворення комплексу в її найменшому значенні, ккал/моль.

Таблиця 4. Результат молекулярного докінгу досліджуваних сполук до кінази анапластичної лімфоми

N	E_{min}	E_{min}	E_{min}	E_{min}	E_{min}	N	E_{min}
1	-6,2	3	-7,2	6	-6,7	9	-8,1
2	-7,3	4	-7,5	7	-6,9	10	-7,6
Кризотиніб	-9,4	5	-7,5	8	-8,4	–	–

E_{min} : оптимальна енергія утворення комплексу в її найменшому значенні, ккал/моль.

ці типи зв'язків посилюються алкільними контактами з залученням залишків валіну (Val A: 117 та 350), лейцину (Leu A: 360 та 532) і тирозину (Tyr A: 356). Одночасно залишок Tyr A: 356 додатково залучається до конструювання С-Н зв'язків із пентильним замісником. Мінімальна енергія утворення комплексу при цьому становила -7,1 ккал/моль.

Зазначимо, що поява додатково π -аніонної взаємодії супроводжувалась зміною енергії комплексоутворення в напрямі посилення взаємодії. Так, у разі аналізу докінгових взаємодій 1-гептил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід з ЦОГ-2 до наведених типів взаємодій активно доєднується залишок глутамінової кислоти (Glu A: 525), що активно формує π -аніонний контакт з ароматичною системою 5-нітрофуранового синтону. Енергія комплексоутворення при цьому становила -7,8 ккал/моль.

Для визначення перспективного напрямку біологічних досліджень надалі вивчали комплекси, що утворюються за участю синтезованих лігандів і ланостерол 14 α -деметилазою. Вивчення взаємодій за допомогою візуалізації докінгових контактів дало змогу конкретизувати природу актуальних амінокислотних залишків і хімічних зв'язків.

Усі досліджені сполуки характеризуються утворенням алкільних взаємодій, що кількісно збільшуються в напрямі подовження карбонового ланцюга. До цього типу взаємодій долучаються залишки лейцину (Leu A: 321), метіоніну (Met A: 79 та 433), фенілаланіну (Phe A:

78), тирозину (Tyr A: 76). Серед інших типів взаємодій активну роль виконує π -алкіль, до якої залучено залишки аланіну (Ala A: 256 та 400 ... 1,2,4-тріазол) і аргініну (Arg A: 121 та 126 ... 5-нітрофуран). Серед інших контактів привертає до себе увагу π - σ , який координується залишком лейцину (Leu A: 321 ... 5-нітрофуран). Вплив на активний центр цього ензиму якісно та кількісно посилюється водневими зв'язками: міжмолекулярним водневим зв'язком за участю залишків аргініну та тирозину (Arg A: 96, Tyr A: 76 ... 5-нітрофуран), π -донорною міжмолекулярною водневою взаємодією (Arg A: 96 ... 5-нітрофуран, Tyr A: 76 ... 1,2,4-тріазол). Енергія формування комплексу в найменшому значенні для препарату порівняння флуконазолу становила -10,9 ккал/моль. Водночас для більшості сполук цей показник відповідав менш сприятливим значенням. Окремо вирізняється 1-гептил- та 1-октил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід із найменшим значенням енергії комплексоутворення на рівні, який наближається до флуконазолу.

На наступному етапі дослідження вивчали можливість взаємодії з кіназою анапластичної лімфоми. Аналіз результатів докінгу досліджуваних лігандів до активного центру цього ферменту показав переважання гідрофобних взаємодій. Наприклад, докінг до активного сайту цього ферменту 1-пентил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід сприяв виявленню алкільних зв'язків, що сформувалися з залученням залишків лейцину (Leu A: 1122 та 1256), π - σ зв'язків, які

також утворились за підтримки фрагмента лейцину (Leu A: 1256 ... 5-нітрофуран). Додатково посилення взаємодії відбувалось за допомогою вуглецево-водневого зв'язку, що реалізовувався із залученням залишку метіоніну (Met A: 1199). У молекул із довшим алкільним замісником визначили збільшення кількості амінокислотних залишків, які були задіяні в активному центрі цього ферменту до взаємодії з досліджуваними лігандами.

Серед найбільш перспективних сполук – 1-гептил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід, що координується в активному сайті цього ферменту завдяки алкільним контактам, які реалізуються залишками аланіну (Ala A: 1148), лейцину (Leu A: 1196 та 1256). Посилнюється ця взаємодія π -алкіль контактами (Leu A: 1122 ... 5-нітрофуран, Ala A: 1148 ... 1,2,4-тріазол). Формування цього зв'язування доповнюється водневими зв'язками.

Міжмолекулярний водневий зв'язок вибудовується за участю метіонінового залишку (Met A: 1199 ... 5-нітрофуран), Карбон – Гідроген взаємодія актуально позиціонується за допомогою аланінового залишку (Ala A: 1200 ... 5-нітрофуран), гліцинового фрагмента (Gly A: 1202 ... 1,2,4-тріазол) та залишку лейцину (Leu A: 1122 ... 5-нітрофуран). Енергетичний внесок у процес утворення комплексу між речовиною та активним сайтом кінази анапластичної лімфоми становить -8,4 ккал/моль; це свідчить про стабільну взаємодію між ними.

Висновки

1. Здійснили комп'ютерне дослідження шляхом включення в ADME-аналіз групи 1-алкіль-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метил)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів, що демонструє достатньо сприятливий фармакокінетичний профіль.

2. Результати докінгових досліджень, що здійснені з модельними сполуками до активних центрів циклооксигенази-2 та кінази анапластичної лімфоми, показали обмежену кількість взаємодій. Узагальнюючи це з мінімальною енергією комплексоутворення, можна припустити обмежені можливості щодо розроблення біологічно активної речовини з протизапальним і протираковим потенціалом. На цьому фоні результати докінгу до активного сайту ланостерол 14 α -деметилази є більш перспективними, дають змогу рекомендувати 1-гептил- та 1-октил-4-(((5-нітрофуран-2-іл)-метил)аміно)-1,2,4-тріазолій броміди для наступних досліджень протирибкової активності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-2229-0232

Британова Т. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-1805-4552

Гоцуля А. С., д-р фарм. наук, доцент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-9696-221X

Information about authors:

Kucherenko L. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Brytanova T. S., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

References

- Ahmad S, Alam O, Naim MJ, Shaquiquzzaman M, Alam MM, Iqbal M. Pyrrole: an insight into recent pharmacological advances with structure activity relationship. *Eur J Med Chem.* 2018;527-61. doi: [10.1016/j.ejmech.2018.08.002](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.002)
- Afsarian MH, Farjam M, Zarenezhad E, Behrouz S, Rad MN. Synthesis, antifungal evaluation and molecular docking studies of some tetrazole derivatives. *Acta Chim Slov.* 2019;66(4):874-87. doi: [10.17344/acsi.2019.4992](https://doi.org/10.17344/acsi.2019.4992)
- Zarenezhad E, Farjam M, Iraj A. Synthesis and biological activity of pyrimidines-containing hybrids: focusing on pharmacological application. *J Mol Struct.* 2021;1230. doi: [10.1016/j.molstruc.2020.129833](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129833)
- Martínez-Matías N, Rodríguez-Medina JR. Fundamental concepts of azole compounds and triazole antifungals: a beginner's review. *P R Health Sci J.* 2018;37(3):135-42.
- Shcherbyna R, Panasenko O, Polonets O, Nedorezaniuk N, Duchenko M. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of ylidenhydrazides of 2-((4-R-5-R1-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetaldehydes. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi.* 2021;45(3):504-14. doi: [10.33483/jfpau.939418](https://doi.org/10.33483/jfpau.939418)
- Samelyuk YG, Kaplaushenko AG. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, containing methoxyphenyl substituents at c5atoms atoms, their antipyretic activity, propensity to adsorption and acute toxicity. *J Chem Pharm Res.* 2014;6(5):1117-21.
- Gotsulya A, Zaika Y, Brytanova T. Synthesis, properties and biological potential some condensed derivatives 1,2,4-triazole. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi.* 2022;46(2):308-21. doi: [10.33483/jfpau.971602](https://doi.org/10.33483/jfpau.971602)
- Malani AH, Makwana AH, Makwana HR. A brief review article: Various synthesis and therapeutic importance of 1, 2, 4-triazole and its derivatives. *Mor. J. Chem.* 2017;5(1):41-58.
- Bekircan O, Menteşe E, Ülker S, Kucuk C. Synthesis of some new 1,2,4-triazole derivatives starting from 3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazol with anti-lipase and anti-urease activities. *Arch Pharm.* 2014;347(6):387-97. doi: [10.1002/ardp.201300344](https://doi.org/10.1002/ardp.201300344)
- Šermukšnytė A, Kantminienė K, Jonuškienė I, Tumosienė I, Petrikaitė V. The effect of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives bearing hydrazone moiety on cancer cell migration and growth of melanoma, breast, and pancreatic cancer spheroids. *Pharmaceuticals.* 2022;15(8):1026. doi: [10.3390/ph15081026](https://doi.org/10.3390/ph15081026)
- Grytsai O, Valiashko O, Penco-Campillo M, Dufies E, Hagege A, Demange L, et al. Synthesis and biological evaluation of 3-amino-1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer compounds. *Bioorg Chem.* 2020;104:104271. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.104271](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104271)
- Safonov AA. Method of synthesis novel N'-Substituted-2-((5-(Thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetohydrazides. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi.* 2020;44(2):242-52. doi: [10.33483/jfpau.580011](https://doi.org/10.33483/jfpau.580011)
- Karpenko Y, Hunchak Y, Gutyj B, Hunchak A, Parchenko M, Parchenko V. Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022;2(36):18-25. doi: [10.15587/2519-4852.2022.255848](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.255848)

14. Gotsulya A. Synthesis and antiradical activity of alkyl derivatives of 5-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi. 2020;44(2):211-9. doi: [10.33483/jfpau.616116](https://doi.org/10.33483/jfpau.616116)
15. Fedotov SO, Hotsulia AS. Synthesis and properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2021;14(3):268-74. doi: [10.14739/2409-2932.2021.3.243176](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176)
16. Chekman IS, Nebesna TY, Symonov PV. In silico: novyi napriam v rozrobsi farmakolohichnykh ta farmatsevychnykh vlastyvostei likarskykh zasobiv [In silico: a new direction in the development of pharmacological and pharmaceutical properties of medicines]. Klinichna farmatsiia. 2012;16(2):4-14. Ukrainian.
17. Discovery Studio Visualizer v19.1.018287. Accelrys Software Inc., [Internet]; [cited 2024 Jan 11]. Available from: <https://www.3dsbiovia.com>
18. MarvinSketch version 20.20.0, ChemAxon. [Internet]. Available from: <http://www.chemaxon.com>
19. Protein Data Bank. [Internet]; [cited 2024 Jan 11]. Available from: <http://www.rcsb.org>



Investigation of antioxidant interaction between ascorbic acid and rutin in medicine “Ascorutin”

O. Yu. Maslov¹, M. A. Komisarenko¹, S. V. Kolisnyk¹, M. Yu. Golik¹

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

Phytomedicines are combined pharmaceuticals containing various groups of phenolic compounds. It is known that phenolic compounds are powerful antioxidants, but their level of antioxidant activity during interactions has not been previously studied.

The aim of the work was to investigate interaction between ascorbic acid and rutin in medicine “Ascorutin”.

Materials and methods. The objects of the study were one series of tablets “Ascorutin,” rutin, and ascorbic acid. The level of antioxidant activity was measured by the potentiometric method.

Results. The level of antioxidant activity of model solutions of rutin was 265.51 ± 1.00 mmol-eq./L, ascorbic acid – 99.00 ± 1.00 mmol-eq./L, a combination of rutin and ascorbic acid – 255.60 ± 1.00 mmol-eq./L, and medicine “Ascorutin” – 256.52 ± 1.00 mmol-eq./L. An experimental value of the level of antioxidant activity of “Ascorutin”, the combination of rutin and ascorbic acid was 30 % less than theoretical values.

Conclusions. The antioxidant interaction of ascorbic acid and rutin in “Ascorutin” medicine has been studied. It has been established that the combination of rutin and ascorbic acid has an antagonistic effect.

The findings of this research will serve as a stimulus for exploring the interaction of bioactive substances and selecting their optimal combinations for the development of pharmaceuticals, special food products, food, and cosmetic products.

Keywords: antioxidant activity, interaction, rutin, ascorbic acid, antagonism.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):17-20

Дослідження антиоксидантної взаємодії аскорбінової кислоти і рутину у лікарському препараті «Аскорутин»

О. Ю. Маслов, М. А. Комісаренко, С. В. Колісник, М. Ю. Голік

Фітопрепарати – комбіновані лікарські препарати, що містять різні групи фенольних сполук. Відомо, що фенольні сполуки є потужними антиоксидантами, але раніше не було вивчено рівень антиоксидантної активності при їх взаємодії.

Мета роботи – вивчити взаємодію аскорбінової кислоти та рутину в лікарському препараті «Аскорутин».

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження – одна серія таблеток «Аскорутин», рутин та аскорбінова кислота. Рівень антиоксидантної активності вимірювали потенціометричним методом.

Результати. Рівень антиоксидантної активності модельних розчинів рутину (0,38 М) становив $265,51 \pm 1,00$ ммоль-екв./л, аскорбінової кислоти (0,11 М) – $99,00 \pm 1,00$ ммоль-екв./л, комбінації рутину та аскорбінової кислоти (0,38 + 0,11 М) – $255,60 \pm 1,00$ ммоль-екв./л, а препарату «Аскорутин» (0,38 + 0,11 М) – $256,52 \pm 1,00$ ммоль-екв./л.

Експериментальне значення рівня антиоксидантної активності «Аскорутину», комбінації рутину та аскорбінової кислоти становило на 30 % менше за теоретичні дані.

Висновки. Вивчили антиоксидантну взаємодію аскорбінової кислоти та рутину у препараті «Аскорутин». Встановлено, що комбінація рутину та аскорбінової кислоти має антагоністичний ефект.

Результати цього дослідження будуть стимулом для вивчення взаємодії біоактивних речовин та вибору їх оптимальних комбінацій для розробки лікарських препаратів, спеціальних харчових продуктів, харчових продуктів і косметичних засобів.

Ключові слова: антиоксидантна активність, взаємодія, рутин, аскорбінова кислота, антагонізм.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 17-20

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/295418>

UDC 615.32: 615.23: 546.25: 615.322.4
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.295418](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.295418)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):17-20

Keywords: antioxidant activity, interaction, rutin, ascorbic acid, antagonism.

*E-mail: alexmaslov392@gmail.com

Received: 28.12.2023 // Revised: 19.01.2024 // Accepted: 23.01.2024

Nowadays, the scientific community has established that the development of cardiovascular, metabolic, neurodegenerative, and oncological diseases is associated with oxidative stress [1,2]. The oxidative stress is a condition of the body in which there is an excess formation of reactive oxygen species (ROS) such as superoxide ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical (OH^{\cdot}), and monoxide of nitrogen radical (NO^{\cdot}) [3,4].

The human body has its own antioxidant system, which consists of the following enzymes: superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase [5,6]. However, due to endogenous or exogenous influences, the antioxidant system is not always able to completely inactivate free radicals, thereby increasing the risk of developing the diseases above. Therefore, natural antioxidants found in food are consumed, and in addition, special foods and medicines are added to the daily diet to support the antioxidant system [7,8].

In medicine, a wide variety of special food products, pharmaceuticals, and cosmetic products are used, containing extracts with different chemical compositions and biologically active substances with diverse chemical structures and properties. However, in the development of new pharmaceuticals and special food products, there is often a lack of investigation into their pharmacological interactions. The results of these studies have enabled the formulation of optimal compositions for pharmaceuticals and special food products, ensuring only agonistic or synergistic interactions.

Today, in the scientific community of medicine and pharmacy, there is still debate about the creation of a rating of antioxidants, which would be used in the development and creation of medicines, special food products, cosmetics, and food products. Thus, it is difficult to understand which antioxidants should be taken for the treatment and prevention of diseases.

However, in 2020, we approached the solution to this problem; scientists from the Department of Analytical Chemistry of the National University of Pharmacy developed a conditional classification of the “strength” of the antioxidant activity of antioxidants; epigallocatechin-3-O-gallate was taken as the standard; in total, 6 levels were identified: very high, high, medium, below medium, low, very low, and none [9,10].

Since today there is no general rating of antioxidants, the choice of antioxidants was based on their application as drugs in medicine and pharmacy. So, rutin and ascorbic acid were chosen since the drug “Ascorutin” is on the pharmaceutical market and widely applied. The composition of “Ascorutin” contains 50 mg of rutin and ascorbic acid.

In the scientometric databases Scopus and Web of Science, there are a large number of articles on studying the levels of antioxidant activity of rutin and ascorbic acid using different methods [11,12,13], but little attention has been paid to the study of the antioxidant activity of “Ascorutin” and the antioxidant interaction between rutin and ascorbic acid.

Aim

The aim of the work was to investigate interaction between ascorbic acid and rutin in medicine “Ascorutin”.

Materials and methods

Chemical reagents. Ascorbic acid $\geq 98.0\%$ (Sigma Aldrich Ltd), rutin $\geq 98.0\%$ (Sigma Aldrich Ltd), “Ascorutin” (LLC “Zdorovye”, series number AC210323); $K_3[Fe(CN)_6]$, $K_4[Fe(CN)_6]$, $NaHPO_4$, KH_2PO_4 had a chemical grade classification, purchased in Kharkov-Reakhimi.

Equipment. Potentiometric determination of antioxidant activity, a Hanna 2550 pH meter (FRG) with a combined platinum electrode EZDO 50PO (Taiwan) was used.

Antioxidant activity. The antioxidant activity was assessed using the potentiometric method [14,15,16]. Antioxidant activity was calculated according to the following equation and expressed as mmol-equiv./L:

$$AOA = (C_{ox} - \alpha \times C_{red}) / (1 + \alpha) \times K_{dil} \times 10^3,$$

where, $\alpha = C_{ox}/C_{red} \times 10^{(\Delta E - E_{ethanol})nF/2.3RT}$; C_{ox} – concentration of $K_3[Fe(CN)_6]$, mol/l; C_{red} – concentration of $K_4[Fe(CN)_6]$, mol/l; $E_{ethanol} = 0.0546 \cdot C_{\%} - 0.0091$; $C_{\%}$ – concentration of ethanol; ΔE – change of potential; $F = 96485.33$ C/mol – Faraday constant; $n = 1$ – number of electrons in electrode reaction; $R = 8.314$ J/molK – universal gas constant; $T = 298$ K; K_{dil} – coefficient of dilution.

Statistical analysis. The measurements were conducted in five replicates. The results were expressed as mean values accompanied by standard deviation, reflecting the level of certainty in the measurements. Statistical analysis was performed using MS Excel 7.0 and Statistica 6.0 software, enabling thorough data evaluation and interpretation.

Results

The treatment and prevention of cardiovascular, metabolic, and neurodegenerative diseases often involve the use of a variety of individual and combination plant-based medications, such as “Cratal”, “Ascorutin”, hawthorn tincture, motherwort tincture, etc. These medicinal preparations are complex agents, and their chemical composition includes various derivatives of flavonoids and phenolic compounds, which play a crucial role in their pharmacological actions. In pharmacology, the following terms are used to describe the type of interaction between pharmaceuticals: antagonism ($1 + 1 = 0$), agonism ($1 + 1 = 2$), and synergy ($1 + 1 = 5$) [17]. In our opinion, when combining different antioxidants, various types of interactions will also occur, primarily related to the chemical properties of antioxidants.

In our experiment, four model solutions were prepared: rutin (0.38 M); ascorbic acid (0.11 M); a mixture of rutin and ascorbic acid (0.38 and 0.11 M); “Ascorutin” solution (0.38 and 0.11 M). Then, the level of antioxidant activity of the aforementioned solutions was studied using the potentiometric method.

According to the results of the study, the antioxidant activity of rutin was 265.52 ± 1.00 mmol-eq./L, and that of ascorbic acid was 99.00 ± 1.00 mmol-eq./L. Subsequently, the theoretical antioxidant activity of a mixture of ascorbic acid and rutin was calculated, amounting to 364.52 mmol-equiv./L. The next stage of the experiment involved investigating the

Table 1. Theoretical and practical results of antioxidant activity of rutin, ascorbic acid, and medicine “Ascorutin”

Sample	Concentration, M	Experimental value of anti-oxidant activity, mmol-eq./L	Theoretical value of anti-oxidant activity, mmol-equiv./l	Difference, %
Ascorbic acid	0.11	99.00 ± 1.00	–	–
Rutin	0.38	265.52 ± 1.00	–	–
Ascorbic acid + Rutin	0.11 + 0.38	255.60 ± 1.00	364.52	-30.0
“Ascorutin”	0.11 + 0.38	256.52 ± 1.00	364.52	-30.0

antioxidant effect of a mixture of ascorbic acid with rutin and the drug “Ascorutin”. *Table 1* shows that the level of antioxidant activity of the mixture of ascorbic acid and rutin was 255.60 ± 1.00 mmol-eq./L, and “Ascorutin” exhibited an antioxidant activity of 256.52 ± 1.0 mmol-eq./L.

Discussion

The experimental results showed that the level of antioxidant activity from the experimental data was 30 % less for the two research objects when compared to the theoretical data. Additionally, it's worth noting that the sum of the antioxidant effect of the mixture of ascorbic acid with rutin and the drug “Ascorutin” was less by 3.7 % and 3.0 %, respectively, than the antioxidant effect of rutin alone. This indicates an antagonistic interaction, rather than agonism or synergism, between rutin and ascorbic acid. These findings underscore the importance of studying the interactions of biological active substances with each other. It also raises the question of whether antagonism observed in antioxidant interactions could extend to other pharmacological activities, such as anti-inflammatory or cardioprotective effects.

We can assume that the antagonism of rutin and ascorbic acid is because the standard electrode potential of ascorbic acid is -58 mV [18], which indicates high reduction properties, and rutin – 88 mV [19].

As you can see, the standard electrode potential of rutin is much higher than that of ascorbic acid, which is associated with lower reducing abilities. In the potentiometric method, the oxidizing agent $K_3[Fe(CN)_6]$ is used; when adding a solution of ascorbic acid with rutin to the mediator system, first of all, the redox reaction will occur with ascorbic acid, since its potential is lower, and then it will react with rutin. However, after oxidation, ascorbic acid is converted into a pro-oxidant, which will also oxidize rutin, leading to a decrease in the antioxidant properties of rutin.

Conclusions

1. The antioxidant interaction between ascorbic acid and rutin in “Ascorutin” medicine has been studied.
2. It has been established that the combination of rutin and ascorbic has an antagonistic effect.
3. The findings of this research will serve as a stimulus for exploring the interaction of bioactive substances and selecting their optimal combinations for the development of pharmaceuticals, special food products, food, and cosmetic products.

Prospects for further research: the next stage of our research will involve studying the antioxidant interaction of phenolic compounds, such as catechin, gallic acid, and caffeic acid; and developing a medicinal product with an optimal composition of phenolic compounds that exhibit only agonistic or synergistic antioxidant interactions.

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

Information about authors:

Maslov O. Yu., PhD, Assistant of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-9256-0934

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

ORCID ID: 0000-0002-1161-8151

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

ORCID ID: 0000-0002-4920-6064

Golik M. Yu., PhD, DSc, Professor of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-3134-9849

Відомості про авторів:

Маслов О. Ю., д-р філософії, асистент каф. загальної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

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

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

Голік М. Ю., д-р фарм. наук, професор каф. загальної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

References

1. Maslov OY, Komisarenko MA, Kolisnyk SV, Golik MY, Tsapko YO, Akhmedov EY. Determination of the extraction frequency of green tea leaves by the antioxidant method. *J Org Pharm Chem.* 2022;20(1):28-34. doi: 10.24959/ophcj.22.252320
2. Maslov OY, Komisarenko MA, Ponomarenko SV, Kolisnyk SV, Osolodchenko TP, Kostina TA, et al. Antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of the obtained “Cachisept” tablets for resorption in the oral cavity for the treatment and prevention of dental caries. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.* 2023;16(3):213-6. doi: 10.14739/2409-2932.2023.3.285425
3. Maslov OY, Komisarenko MA, Kolisnyk SV, Antonenko OV, Kolisnyk OV, Kostina TA. The study of the qualitative composition and the quantitative content of phenolic compounds in dietary supplements with lingonberry. *J Org Pharm Chem.* 2021;19(4):40-6. doi: 10.24959/ophcj.21.243782
4. Maslov O, Komisarenko M, Kolisnyk S, Kostina T, Golik M, Moroz V, et al. Investigation of the extraction dynamic of the biologically active substances of the raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots. *Curr Issues Pharm Med Sci.* 2023;36(4):194-8. doi: 10.2478/cipms-2023-0034

5. Maslov OY, Komisarenko MA, Golik MY, Kolisnyk SV, Altukhov AA, Baiurka SV, et al. Study of total antioxidant capacity of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots. *Rev Vitae*. 2023;30(1). doi: [10.17533/udea.vitae.v30n1a351486](https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v30n1a351486)
6. Maslov O, Kolisnyk S, Komisarenko M, Golik M, Antonenko O. Study of chemical composition and antioxidant activity of tincture, infusion of green tea leaves. *Fitoterapia. Chasopys*. 2022;(1):48-52. doi: [10.33617/2522-9680-2022-1-48](https://doi.org/10.33617/2522-9680-2022-1-48)
7. Maslov OY, Kolisnyk SV, Komisarenko MA, Kostina TA, Dynnyk KV. Development the composition and technology for obtaining a dietary supplement "Cachinol" with the antioxidant activity in the form of granules used in the polycystic ovary syndrome. *News of Pharmacy*. 2022;103(1):42-7. doi: [10.24959/nphj.22.77](https://doi.org/10.24959/nphj.22.77)
8. Maslov OY, Kolisnyk SV, Hrechana OV, Serbin AH. Study of the qualitative composition and quantitative content of some groups of BAS in dietary supplements with green tea leaf extract. *Zaporozhye medical journal*. 2021;23(1):132-7. doi: [10.14739/2310-1210.2021.1.224932](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.1.224932)
9. Maslov OY. [Phytochemical study and standardization medicines with antioxidant activity from green tea leaves] [dissertation]. Kharkiv, Ukraine: National University of Pharmacy; 2022. Available from: <https://nrat.ukrintei.ua/en/searchdoc/0823U100107/>
10. Maslov OY, Kolisnyk SV, Komisarenko MA, Altukhov AA, Dynnyk KV, Stepanenko VI. Study and evaluation antioxidant activity of dietary supplements with green tea extract. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2021;14(2):215-9. doi: [10.14739/2409-2932.2021.2.233306](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.233306)
11. Gegotek A, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants*. 2022;11(10):1993. doi: [10.3390/antiox11101993](https://doi.org/10.3390/antiox11101993)
12. Yang J, Guo J, Yuan J. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT – Food Science and Technology*. 2008;41(6):1060-6. doi: [10.1016/j.lwt.2007.06.010](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.010)
13. Maslov OY, Kolisnyk SV, Komisarenko MA, Akhmedov EY, Koval AO, Kostina TA, et al. Metrological Characteristics of the Potentiometric Assay Developed for Determining the Antioxidant Activity of Ascorbic Acid. *J Org Pharm Chem*. 2023;21(3):31-7. doi: [10.24959/ophcj.23.276394](https://doi.org/10.24959/ophcj.23.276394)
14. Maslov O, Komisarenko M, Ponomarenko S, Horopashna D, Osolodchenko T, Kolisnyk S, et al. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract. *Curr Issues Pharm Med Sci*. 2022;35(4):229-35. doi: [10.2478/cipms-2022-0040](https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0040)
15. Maslov O, Kolisnyk S, Komisarenko M, Komisarenko A, Osolodchenko T, Ponomarenko S. In vitro antioxidant and antibacterial activities of green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) liquid extracts. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022;(2):64-7. doi: [10.5281/zenodo.6634846](https://doi.org/10.5281/zenodo.6634846)
16. Maslov OY, Kolisnyk SV, Ponomarenko SV, Ahmedov EY, Shovkova ZV. The study of the effect of ethyl alcohol concentrations on the antioxidant activity of ascorbic acid solutions. *J Org Pharm Chem*. 2021;19(2):44-7. doi: [10.24959/ophcj.21.231947](https://doi.org/10.24959/ophcj.21.231947)
17. Flaten MA. Drug effects: agonistic and antagonistic processes. *Scand J Psychol*. 2009;50(6):652-9. doi: [10.1111/j.1467-9450.2009.00776.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-9450.2009.00776.x)
18. Matsui T, Kitagawa Y, Okumura M, Shigeta Y. Accurate standard hydrogen electrode potential and applications to the redox potentials of vitamin C and NAD/NADH. *J Phys Chem A*. 2015;119(2):369-76. doi: [10.1021/jp508308y](https://doi.org/10.1021/jp508308y)
19. Namazian M, Zare HR, Coote ML. Determination of the absolute redox potential of Rutin: experimental and theoretical studies. *Biophys Chem*. 2008;132(1):64-8. doi: [10.1016/j.bpc.2007.10.010](https://doi.org/10.1016/j.bpc.2007.10.010)



Coupling thin layer chromatography with mass spectrometry for detection and identification of sertraline and its metabolite in the urine

S. V. Baiurka¹, S. A. Karpushyna², N. M. Kosmina³, L. V. Krychkovska¹,
I. Ye. Bylov¹, O. O. Altukhov³

¹National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, ²Uman National University of Horticulture, Ukraine, ³Kharkiv Scientific Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of 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 study was to detect sertraline and its metabolites in urine under standardized thin layer chromatography (TLC) screening conditions and identify the metabolites using the mass spectrometry method.

Materials and methods. Urine samples, collected within 30 hours in portions of 20–50 mL, commenced from the seventh hour after the administration of a single therapeutic dose of the drug. The sample preparation process involved dilute acid hydrolysis, followed by the extraction of the native compound and metabolites with chloroform at a pH of 8–9. Thin layer chromatography studies of the extracts were conducted using four unified TLC systems recommended by The International Association of Forensic Toxicologists for general drug screening. Chromatograms were subjected to color reactions with a variety of chromogenic reagents. For the analysis of eluates from chromatograms, a Varian 1200 L mass spectrometer (Netherlands) equipped with a dual quadrupole mass analyzer was employed. Identification was performed through direct sample introduction into the ion chamber, electron-impact ionization (70 eV), and full ion scanning mode.

Results. The spot of the native drug on the chromatogram was identified by the R_f value. Metabolite of sertraline was identified as N-desmethyltrihydroxysertraline by the molecular ion peak in the mass spectrum.

Conclusions. The study demonstrated the ability of TLC to detect sertraline and its metabolite, N-desmethyltrihydroxysertraline, in urine after the administration of a single therapeutic dose of the drug. The chromatographic mobility of the native compound and N-desmethyltrihydroxysertraline in the unified TLC screening systems, along with the results of their visualization using chromogenic reagents for toxicological drug screening, was determined. Furthermore, the potential of coupling TLC with mass spectrometry for the separation, detection, and confirmatory identification of sertraline and its metabolic products in urine was established.

Keywords: sertraline, hydroxysertraline, N-desmethyltrihydroxysertraline, urine, thin layer chromatography, mass spectrometry.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):21-25

Поєднання тонкошарової хроматографії з мас-спектрометрією для виявлення й ідентифікації сертраліну та його метаболіту в сечі

С. В. Баярка, С. А. Карпушина, Н. М. Косміна, Л. В. Кричківська, І. Є. Білов, О. О. Алтухов

Мета роботи – виявлення сертраліну та його метаболітів у сечі за уніфікованих умов скринінгу за допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ) та ідентифікація метаболітів методом мас-спектрометрії.

Матеріали і методи. Сечу збирали протягом 30 годин порціями по 20–50 мл, починаючи із сьомої години після прийому одноразової терапевтичної дози препарату. Пробопідготовка включала кислотний гідроліз із наступною екстракцією нативної сполуки та метаболітів при рН 8–9. Дослідження екстрактів методом тонкошарової хроматографії здійснили в 4 уніфікованих ТШХ-системах, запропонованих Міжнародною асоціацією судових токсикологів для загального скринінгу лікарських засобів. Кольорові реакції проводили з використанням ряду хромогенних реактивів. Для аналізу елюатів із хроматограм використовували мас-спектрометр Varian 1200 L (Нідерланди) з подвійним квадрупольним мас-аналізатором. Ідентифікацію здійснили при прямому введенні зразка в іонну камеру, іонізації електронним ударом (70 eV) в режимі повного сканування іонів.

Результати. Плямку сполуки речовини на хроматограмі ідентифікували за величиною R_f . Метаболіт сертраліну ідентифікований як N-дезметилтригідроксисертралін за молекулярним іоном у мас-спектрі.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/293490>

UDC 616.63:615.214.22]-074:[543.544+543.42]
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.293490

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):21-25

Keywords: sertraline, hydroxysertraline, N-desmethyltrihydroxysertraline, urine, thin layer chromatography, mass spectrometry.

*E-mail: svitkrp@gmail.com

Received: 01.12.2023 // Revised: 18.12.2023 // Accepted: 22.12.2023

Висновки. Показана здатність ТШХ виявляти сертралін і його метаболіт *N*-дезметилтригідроксисертралін у сечі після приймання одноразової терапевтичної дози препарату. Визначено хроматографічну рухливість нативної сполуки та *N*-дезметилтригідроксисертраліну в уніфікованих скринінгових ТШХ-системах, а також результати їх візуалізації за допомогою хромогенних реагентів, що застосовують для токсикологічного скринінгу лікарських засобів. Показано здатність поєднання ТШХ із мас-спектрометрією для розділення, виявлення та підтверджувальної ідентифікації сертраліну та продуктів його метаболізму в сечі.

Ключові слова: сертралін, гідроксисертралін, *N*-дезметилтригідроксисертралін, сеча, тонкошарова хроматографія, мас-спектрометрія.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 21-25

Sertraline ((1*S*,4*S*)-4-(3,4-dichlorophenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-*N*-methyl-1-naphthalenamine) is a widely prescribed antidepressant [1,2], belonging to the class of selective serotonin reuptake inhibitors. It is commonly used to manage mental health symptoms associated with depression, including major depressive disorder [2,3,4,5,6,7,8], anxiety disorders, and obsessive-compulsive disorder [9,10]. The therapeutic dose typically ranges from 50 mg/day to 200 mg/day [6,11]. While considered relatively safe, sertraline, like many medications, is associated with side effects and complications. These include potentially severe conditions such as life-threatening serotonin syndrome [12,13,14,15], neurological disorders like Neuroleptic malignant syndrome [16] and hemichorea-hemiballism [17], as well as hepatotoxicity [9] leading to acute liver injury [18].

Episodes of acute and lethal sertraline poisoning also were registered [11,13,19,20,21,22,23]. The toxic *per os* dose was 8000 mg in acute sertraline poisoning with the toxic concentration being in the blood serum 2930 µg/L for sertraline and 1679 µg/L for *N*-desmethylsertraline [11]; registered doses were in the range of 250–5000 mg in other cases of sertraline overdoses [20]. Thus, developing the analytical aspects of sertraline toxicology is a topical issue.

The current trend in the development of bioanalytical methods for the determination of antidepressants is the prevalence of gas chromatography and liquid chromatography with mass spectrometric detection [24]. Most of the methods cited in the literature for the determination of sertraline in biological fluids and biological materials are based on the use of high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection [25]. However, it's worth noting that these analytical methods often necessitate high-cost equipment, which may not always be readily available.

One of the most accessible types of screening procedures in forensic toxicology is thin layer chromatography (TLC screening), owing to its low cost, simplicity, quick development time, high sensitivity, and good reproducibility. The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT) has recommended unified TLC systems with an R_f database for over 16,000 toxicologically important drugs [11]. However, the parameters of chromatographic mobility for sertraline in these unified TLC systems remain incompletely studied, and R_f values for sertraline metabolites have yet to be determined.

Despite several advantages, the TLC method does not offer direct identification and structural characterization of analytes on the TLC plate. To overcome this limitation, various tech-

niques involving the indirect and direct coupling of TLC to mass spectrometry have been developed in recent years [26].

Aim

The aim of the study was to detect sertraline and its metabolites in urine under unified TLC screening conditions and identify the metabolites using the mass spectrometry method.

Materials and methods

The pure substance of sertraline was isolated from the medication Stimuloton® (28 tablets, each containing 100 mg, Egis, Budapest, Hungary) using the following method: 14 tablets were placed into a glass beaker, and 10 mL of methanol was added. The tablets were left until the shells dissolved. Subsequently, the tablets, now freed from shells, were transferred to a porcelain mortar and ground to form a homogeneous mass. A mixture of 50 mL of methanol and chloroform (1:1) was added and mixed. The contents of the mortar were then filtered through a paper filter into a porcelain cup and evaporated in a water bath at a temperature not exceeding 40 °C until the organic solvent was removed. The residue in the cup was dried. The purity of the substance was assessed through TLC, UV spectrophotometry, and HPLC.

The volunteer's urine samples after taking a single therapeutic dose of sertraline (2 tablets of 100 mg each Stimuloton®) were studied. Urine was collected within 30 hours in portions of 20–50 mL, starting from the seventh hour after taking the drug.

All chemicals were of analytical grade or better.

Sample preparation. The concentrated hydrochloric acid in the volume of 1 mL (it was based on the ratio of 0.10 mL of the acid for every 2.0 mL of the biological fluid) was added to 20 mL of the urine and the mixture was heated in a boiling water bath for 30 min. The obtained hydrolyzate was cooled, placed in a separatory funnel, and shaken with 10 mL of diethyl ether three times for 5 min each time. The organic layer was separated and discarded. The aqueous layer was placed in a separatory funnel again, alkalinized with the sodium hydroxide 20 % solution to pH of 8–9 and sertraline-base was extracted with 10 mL of chloroform three times each time. The extracts obtained were combined, filtered through a pleated blue band paper filter containing 0.2 g of anhydrous sodium sulfate, and evaporated in a water bath at 40 °C to remove chloroform. The dry residue was dissolved in 5 mL of chloroform, mixed thoroughly, and transferred to a volumetric flask with a capacity of 25.00 mL adjusting to the specified volume with the same solvent.

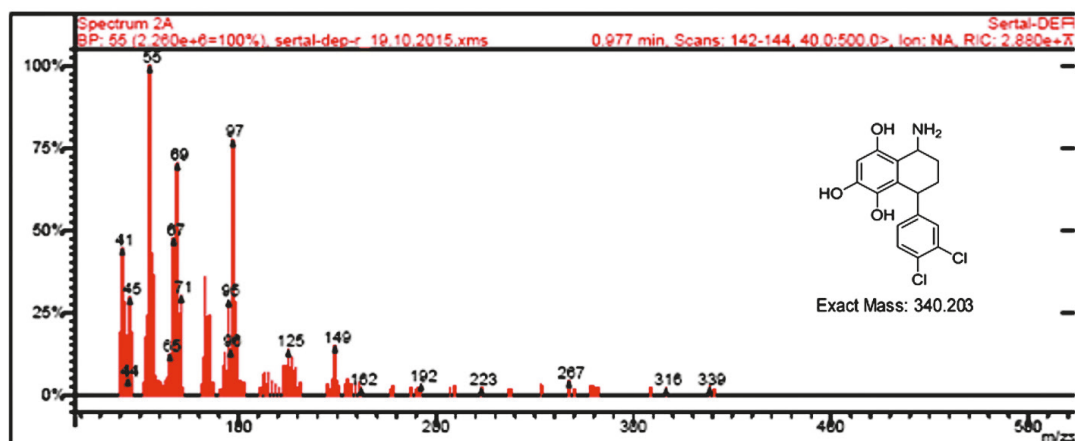


Fig. 1. Mass-spectrum of *N*-desmethyln-trihydroxysertraline extracted from the urine samples.

The standard solution of sertraline in methanol (1.0 mg/mL) was previously subjected to acid hydrolysis under the described conditions. The potential appearance of acid destruction products of the drug was monitored by TLC using Merck chromatographic plates and the mobile phases listed below. Notably, no additional spots were detected in the chromatograms.

Thin layer chromatography studies of the extracts. The Merck chromatographic plates were applied. Aliquot of the 1/10 part of the biological extract, aliquot of the 1/10 part of the blank biological extract were concentrated to the minimum volume of ~0.05 mL and spotted on four TLC plates. Then 10 μ L of the methanol standard solution of sertraline (1.0 mg/mL) was spotted next with the help of a microsyringe. The rest of the biological extract evaporated to the volume of ~0.05 mL was applied as a band only on the chromatography plate, which then was developed in the mobile phase of ethyl acetate – methanol – 25 % ammonia solution (85:10:5). Importantly, the zone in the chromatogram corresponding to this band was not treated with the location reagent.

Chromatograms were initially developed in the chloroform mobile phase and subsequently in one of the mobile phases listed in Table 1. Rectangular glass chambers (25 \times 25 \times 12 cm) were used for this process. Visualization was performed using ninhydrin solution in acetone and acidified potassium iodoplatinate reagent. Subsequently, sertraline was eluted from the chromatogram band untreated by the location reagents with 4 mL of methanol, resulting in an elution yield of 99.5 %. The eluate was then filtered through a blue band paper filter.

The color reactions were performed with 0.5 mL of the obtained eluates using pieces of chromatographic plates and a range of the chromogenic reagents listed in Table 2.

Mass Spectrometry analysis of the eluates. A Varian 1200 L mass spectrometer (Netherlands) equipped with a dual quadrupole mass analyzer was used. Detection was undertaken at the direct introduction of the sample into the ion chamber, electron-impact ionization (70 eV), and full ion scanning mode.

Results

On the chromatograms of the biological extracts obtained after the sample preparation of the volunteer's urine following a single therapeutic dose of sertraline, two spots were detected. In contrast, blank biological extracts did not exhibit corresponding spots. The spot of the native compound was identified by the R_f value, which coincided with the specified retention parameter for sertraline in the standard solution.

Fig. 1 shows mass spectrum of the eluate from chromatograms corresponding to other spots that did not match the native drug. The suspected product of sertraline biotransformation was identified as *N*-desmethyln-trihydroxysertraline by the molecular ion peak in the mass spectrum.

N-desmethyln-trihydroxysertraline mass spectrum (EI, 70 eV), m/z (I_{rel} , %): 339 [M]⁺(2.5), 316 (2.5), 267 (5), 223 (2.5), 192 (2.5), 162 (5), 149 (32.5), 125 (30), 97 (77.5), 96 (30), 95 (30), 71 (30), 69 (70), 67 (47.5), 65 (12.5), 55 (100), 45 (30), 41 (45) (Fig. 1). Found, m/z : 339 [M]⁺. C₁₆H₁₅Cl₂NO₃. Calculated, m/z : 340.203.

R_f values of sertraline and *N*-desmethyln-trihydroxysertraline extracted from the urine are shown in Table 1. Color reactions for sertraline and *N*-desmethyln-trihydroxysertraline are presented in Table 2.

Discussion

The urine samples were collected based on literature data regarding sertraline pharmacokinetics. Approximately 40–45 % of the drug is excreted in the urine, with a half-life ranging from 22–36 hours [11] and 28 hours following overdose [20]. Sertraline and its main metabolite, *N*-desmethylsertraline, found in the blood, undergo hydroxylation followed by conjugation with glucuronic acid [11,27]. This necessitates a pretreatment step involving dilute acid hydrolysis. Consequently, the hydroxylated product of *N*-desmethylsertraline, namely *N*-desmethyln-trihydroxysertraline, was detected in the urine after acid hydrolysis of the biological fluid.

Table 1. R_f values of sertraline and *N*-desmethyltrihydroxysertraline extracted from the urine

Mobile phase	R_f	
	Sertraline	<i>N</i> -desmethyltrihydroxysertraline
Ethyl acetate – methanol – 25 % ammonia solution (85:10:5)	0.54	0.31
Methanol – 25 % ammonia solution (100:1.5)	0.67	0.48
Cyclohexane – toluene – diethyl amine (15:3:2)	0.64	0.47
Toluene – acetone – ethanol – 25 % ammonia solution (45.0:45.0:7.5:2.5)	0.75	0.28

Table 2. Color reactions for sertraline and *N*-desmethyltrihydroxysertraline

Reagent	Sertraline (sensitivity, μg in spot)*	<i>N</i> -desmethyltrihydroxysertraline
Dragendorff–Munier	orange (1.0)	orange
Acidified potassium iodoplinate	blue-violet (1.0)	blue-violet
Ninhydrin solution	no color	no color
Potassium permanganate	blue-violet (5.0)	blue-violet
Van Urk reagent	yellow (5.0)	yellow
Froehde	brownish green (5.0)	yellowish brown
Liebermann	violet → brown → discolouration (2.0)	brown
Marquis	brownish yellow (2.0)	brown
Sulphuric acid concentrated	brown (2.0)	no color
Froehde	blue (5.0)	blue → brown
Mandelin	no color	no color
Erdmann	no color	no color
Nitric acid concentrated	no color	no color

*: it was determined using standard solutions of sertraline in methanol.

The conditions for sample preparation were optimized using previously obtained data on the extraction yield of sertraline from aqueous solutions with organic solvents, dependent on pH. The maximum extraction yield, reaching 79 %, was observed at pH 8 for chloroform. The chosen organic solvent needed to exhibit an efficiency of at least 50 %, preferably higher, while minimizing the extraction of endogenous substances. To meet this requirement, a back-extraction step was incorporated into the extraction scheme to minimize the extraction of matrix components. Diethyl ether was selected for this purpose due to its low extraction yield of 28 % at pH 1.

The chromatographic mobility of sertraline and its isolated metabolite, *N*-desmethyltrihydroxysertraline, was investigated in four mobile phases, including those recommended by TIAFT for general drug screening [11]. Following TIAFT guidelines, the use of multiple chromatographic systems, a minimum of three, significantly enhances the reliability of substance identification by TLC [11]. *Table 1* demonstrates that all applied mobile phases offer satisfactory separation of sertraline and *N*-desmethyltrihydroxysertraline. For the current study, mobile phase No. 1 was utilized for TLC purification.

The color selection for the biogenic matrix components was obtained with potassium permanganate, Van Urk, Liebermann reagents (*Table 2*).

N-desmethyltrihydroxysertraline contains a primary amino group in its structure, but like the native compound, it does not react with ninhydrin, probably because of the steric effect arising from the cyclohexane ring. The sensitivity of the color reactions for the sertraline determined using the standard methanol solution of the drug was in the range of 1.0–5.0 μg in the spot.

This work is a contribution to the toxicological screening of sertraline using TLC. Obtained data can be used in the practice of forensic and clinical toxicology.

Conclusions

1. The study demonstrated the ability of TLC to detect sertraline and its metabolite, *N*-desmethyltrihydroxysertraline, in urine after a single therapeutic dose of the drug.

2. The chromatographic mobility of the native compound and *N*-desmethyltrihydroxysertraline in unified TLC screening systems, along with the results of their visualization using chromogenic reagents for toxicological drug screening in systematic toxicological analysis, has been determined.

3. The study showcased the potential of coupling TLC with mass spectrometry for the separation, detection, and confirmatory identification of sertraline and its metabolic products in urine.

Prospects for further research. The developed conditions for detection of sertraline in the urine in the presence of its metabolite products under conditions the unified TLC screening systems will be used for further creation of toxicological examination algorithm of biological samples for the presence of sertraline in the cases of lethal intoxications by antidepressants.

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about authors:

Bairuka S. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Medicinal Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7505-6322](https://orcid.org/0000-0001-7505-6322)

Karpushyna S. A., PhD, Associate Professor of the Department of Biology, Uman National University of Horticulture, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-8834-4286](https://orcid.org/0000-0001-8834-4286)

Kosmina N. M., PhD, Senior Research Fellow, Head of the Department of Materials, Substances and Products, Kharkiv Scientific Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-9334-1036](https://orcid.org/0000-0002-9334-1036)

Krychkovska L. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-3136-3149](https://orcid.org/0000-0003-3136-3149)

Bylov I. Ye., PhD, Associate Professor of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-7685-465X](https://orcid.org/0000-0001-7685-465X)

Altukhov O. O., PhD, Associate Professor, Forensic Expert of the Department of Materials, Substances and Products, Kharkiv Scientific Research Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6930-8917](https://orcid.org/0000-0001-6930-8917)

Відомості про авторів:

Бяюрка С. В., д-р фарм. наук, професор каф. медичної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
Карпушина С. А., канд. хім. наук, доцент каф. біології, Уманський національний університет садівництва, Україна.

Косміна Н. М., канд. юрид. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу матеріалів, речовин та виробів, Харківський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України.

Кричківська Л. В., д-р біол. наук, професор каф. біотехнології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Білов І. Є., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Алтухов О. О., канд. фарм. наук, доцент, судовий експерт відділу матеріалів, речовин та виробів, Харківський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України.

References

- Stoilkovic M, Nikolic VN, Ilic N, Vujovic M, Popovic D, Milovanovic J, et al. Population Pharmacokinetic Modeling to Inform Sertraline Dosing Optimization in Patients with Depression. *Pharmacology*. 2023;108(4):409-15. doi: [10.1159/000530084](https://doi.org/10.1159/000530084)
- Hsu LM, Lane TJ, Wu CW, Lin CY, Yeh CB, Kao HW, et al. Spontaneous thought-related network connectivity predicts sertraline effect on major depressive disorder. *Brain Imaging Behav*. 2021;15(4):1705-17. doi: [10.1007/s11682-020-00364-w](https://doi.org/10.1007/s11682-020-00364-w)
- Gregg LP, Carmody T, Le D, Bharadwaj N, Trivedi MH, Hedayati SS. Depression and the Effect of Sertraline on Inflammatory Biomarkers in Patients with Nondialysis CKD. *Kidney360*. 2020;1(6):436-46. doi: [10.34067/KID.0000062020](https://doi.org/10.34067/KID.0000062020)
- Strumia M, Guerrero F, Maurel-Ribes A, Garcia C, Payrastra B, Bagheri H. Platelet function defects and sertraline-induced bleeding: a case report. *Fundam Clin Pharmacol*. 2020;34(5):632-6. doi: [10.1111/fcp.12552](https://doi.org/10.1111/fcp.12552)
- Schafer SM, Wager TD, Mercado RA Jr, Thayer JF, Allen JJ, Lane RD. Partial Amelioration of Medial Visceromotor Network Dysfunction in Major Depression by Sertraline. *Psychosom Med*. 2015;77(7):752-61. doi: [10.1097/PSY.0000000000000200](https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000200)
- Mowla A, Dastgheib SA, Razeghian Jahromi L. Comparing the Effects of Sertraline with Duloxetine for Depression Severity and Symptoms: A Double-Blind, Randomized Controlled Trial. *Clin Drug Investig*. 2016;36(7):539-43. doi: [10.1007/s40261-016-0399-6](https://doi.org/10.1007/s40261-016-0399-6)
- Greenberg T, Fournier JC, Stiffler R, Chase HW, Almeida JR, Aslam H, et al. Reward related ventral striatal activity and differential response to sertraline versus placebo in depressed individuals. *Mol Psychiatry*. 2020;25(7):1526-36. doi: [10.1038/s41380-019-0490-5](https://doi.org/10.1038/s41380-019-0490-5)
- Gilliam FG, Black KJ, Carter J, Freedland KE, Sheline YI, Tsai WY, Lustman PJ. A Trial of Sertraline or Cognitive Behavior Therapy for Depression in Epilepsy. *Ann Neurol*. 2019;86(4):552-60. doi: [10.1002/ana.25561](https://doi.org/10.1002/ana.25561)
- Chen S, Wu Q, Li X, Li D, Fan M, Ren Z, et al. The role of hepatic cytochrome P450s in the cytotoxicity of sertraline. *Arch Toxicol*. 2020;94(7):2401-11. doi: [10.1007/s00204-020-02753-y](https://doi.org/10.1007/s00204-020-02753-y)
- Jha MK, Minhajuddin A, Chin Fatt C, Trivedi MH. Improvements in irritability with sertraline versus placebo: Findings from the EMBARC study. *J Affect Disord*. 2020;275:44-7. doi: [10.1016/j.jad.2020.06.021](https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.06.021)
- Moffat AC, Osselton MD, Widdop B. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4th ed. London, Chicago: Pharmaceutical Press; 2011.
- Speerforck S, Janowitz D, Schomerus G, Grabe HJ. [Psychosis, Intoxication or Serotonin Syndrome? – A 20-Year Old Male with Ziprasidone und Sertraline]. *Psychiatrische Praxis*. 2017;44(8):473-5. German. doi: [10.1055/s-0043-114869](https://doi.org/10.1055/s-0043-114869)
- Pitzianti M, Marciano S, Minnei M, Baratta A, Pasini A. Asynchronicity of Organic and Psychiatric Symptoms in a Case of Sertraline Intoxication. *Clin Neuropharmacol*. 2016;39(5):269-71. doi: [10.1097/WNF.0000000000000169](https://doi.org/10.1097/WNF.0000000000000169)
- Srisuma S, Hoyte CO, Wongvisavakorn S, Wanaukul W. Serotonin syndrome precipitated by sertraline and discontinuation of clozapine. *Clin Toxicol (Phila)*. 2015;53(8):840-1. doi: [10.3109/15563650.2015.1064940](https://doi.org/10.3109/15563650.2015.1064940)
- Fitzgerald KT, Bronstein AC. Selective serotonin reuptake inhibitor exposure. *Top Companion Anim Med*. 2013;28(1):13-7. doi: [10.1053/j.tcam.2013.03.003](https://doi.org/10.1053/j.tcam.2013.03.003)
- Uvais NA, Gangadhar P, Sreeraj VS, Rafeeqe PA. Neuroleptic malignant syndrome (NMS) associated with amisulpride and sertraline use: A case report and discussion. *Asian J Psychiatr*. 2019;41:82-3. doi: [10.1016/j.ajp.2017.10.021](https://doi.org/10.1016/j.ajp.2017.10.021)
- Gatto EM, Aldinio V, Parisi V, Persi G, Da Prat G, Bullrich MB, et al. Sertraline-induced Hemichorea. Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y). 2017;7:518. doi: [10.7916/D8XK999F](https://doi.org/10.7916/D8XK999F)
- Suen CF, Boyapati R, Simpson I, Dev A. Acute liver injury secondary to sertraline. *BMJ Case Rep*. 2013;2013:bcr2013201022. doi: [10.1136/bcr-2013-201022](https://doi.org/10.1136/bcr-2013-201022)
- Nedahl M, Johansen SS, Linnet K. Reference Brain/Blood Concentrations of Citalopram, Duloxetine, Mirtazapine and Sertraline. *J Anal Toxicol*. 2018;42(3):149-56. doi: [10.1093/jat/bkx098](https://doi.org/10.1093/jat/bkx098)
- Cooper JM, Duffull SB, Saiao AS, Isbister GK. The pharmacokinetics of sertraline in overdose and the effect of activated charcoal. *Br J Clin Pharmacol*. 2015;79(2):307-15. doi: [10.1111/bcp.12500](https://doi.org/10.1111/bcp.12500)
- Gurbanov A, Kandemir H, Gurbanova L, Gün E, Botan E, Balaban B, et al. Antidepressant Poisoning Trends in Pediatric Intensive Care: A Comparative Study of New- and Old-Generation Antidepressants. *J Clin Psychopharmacol*. 2023;43(2):139-44. doi: [10.1097/JCP.0000000000001668](https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001668)
- Overberg A, Morton S, Wagner E, Froberg B. Toxicity of Bupropion Overdose Compared With Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. *Pediatrics*. 2019;144(2):e20183295. doi: [10.1542/peds.2018-3295](https://doi.org/10.1542/peds.2018-3295)
- Sasaki C, Shinozuka T, Murakami C, Irie W, Maeda K, Watanabe T, et al. Simultaneous determination of 5 psychotropic drugs of various types in an autopsy case of acute multiple drug poisoning. *Forensic Sci Int*. 2013;227(1-3):90-4. doi: [10.1016/j.forsciint.2012.11.015](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.11.015)
- Gegedish LR, Bidnichenko YI, Feduschak NK. [Using gas chromatography-mass spectrometry for the determination of amitriptyline in biological material]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2013;(2):93-4. Ukrainian. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/apfimmtp_2013_2_29
- Dziurkowska E, Wesolowski M. Sertraline – isolation methods and quantitation in biological material. *Psychiatr Pol*. 2018;52(6):997-1012. English, Polish. doi: [10.12740/PP/85788](https://doi.org/10.12740/PP/85788)
- Zou X, Liu X, Zhang J. [Advances in thin layer chromatography coupled with mass spectrometry technology]. *Se Pu*. 2023;41(1):24-36. Chinese. doi: [10.3724/SP.J.1123.2022.03038](https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2022.03038)
- Baselt CR. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 12th ed. Seal Beach, CA: Biomedical Publications; 2020.



Хроматографічне визначення летких сполук *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka

І. Ф. Дуюн^{ID}*A,C,D,F, С. В. Панченко^{ID}B,E

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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

Процеси вільнорадикального окиснення відіграють важливу роль у патогенезі багатьох захворювань, тому застосування антиоксидантів є патогенетично виправданим і раціональним. Завдяки різноманітному вмісту біологічно активних речовин рослини роду *Achillea* L. виявляють антиоксидантну активність. Беручи до уваги особливості сировини та високу біологічну активність летких сполук, доцільним є дослідження перспективних видів роду *Achillea* L. – деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka), який значно поширений в Україні, має тривалий період вегетації та є перспективним для фармакогностичного вивчення.

Мета роботи – вивчити леткі сполуки екстракту деревію подового трави (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) і встановити їхній компонентний склад.

Матеріали і методи. За допомогою методу тонкошарової хроматографії та методу газової хромато-мас-спектрометрії на хроматографі Agilent Technology 7890 B визначили компонентний склад летких сполук *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. Для ідентифікації компонентів проб використали бібліотеку мас-спектрів NIST14.

Результати. Ідентифікацію компонентів летких сполук здійснили методом тонкошарової хроматографії за допомогою етилацетатних витягів із листя та суцвіть виду, що досліджували. Як рухому фазу використали етилацетат-толуол у співвідношенні (5:95). Методом газової хромато-мас-спектрометрії визначено наявність 30 летких сполук у траві *A. micranthoides* Klok. et Krytzka, серед них ідентифіковано 26 сполук, що становило 86,76 % від загальної кількості.

Висновки. Аналіз результатів свідчить, що домінуючими леткими сполуками в етанольному екстракті трави *A. micranthoides* Klok. et Krytzka є thymol (45,08 %), γ -terpinene (7,8 %) та *p*-сумене (7,69 %). Ці сполуки пропонуємо використовувати як маркерні під час стандартизації.

Ключові слова: *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka, газова хромато-мас-спектрометрія, леткі сполуки, етанольні екстракти.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 26-30

Chromatographic determination of volatile compounds of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka

I. F. Duiun, S. V. Panchenko

The processes of free radical oxidation are known to play a crucial role in the pathogenesis of many diseases. Therefore, the use of antioxidants is considered both pathogenetically justified and rational. Plants belonging to the genus *Achillea* L. are noted for their diverse content of biologically active substances, which contributes to their antioxidant activity. Given the availability of raw materials and the high biological activity of volatile compounds, it is particularly advisable to explore promising species within the genus *Achillea* L., such as yarrow (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka). Yarrow is widespread in Ukraine, characterized by a long vegetation period, and holds promise for further pharmacognostic study.

Aim. The purpose of the work is to study the volatile compounds of the yarrow extract (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) and to establish their component composition.

Materials and methods. The Thin-Layer Chromatography (TLC) method and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) on an Agilent Technology 7890 B chromatograph were employed to determine the component composition of volatile compounds in *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. The NIST14 mass spectral library was utilized for identifying the components of the samples.

Results. Identification of volatile compound components was carried out by chromatography of ethyl acetate extracts from the leaves and inflorescences of the subject TLC in the mobile phase ethyl acetate – toluene (5:95). By the gas method Chromatography-mass spectrometry determined the presence of 30 volatile compounds of grass *A. micranthoides* Klok. et Krytzka, 26 of the compounds were identified, which accounted for 86.76 % of the total number of compounds.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/292618>

UDC 615.322:582.998.16:577.19].074:543.544
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.292618

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):26-30

Keywords: *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka, gas chromato-mass-spectrometry, volatile compounds, ethanol extracts.

*E-mail: duyun77@ukr.net

Received: 04.12.2023 // Revised: 12.01.2024 // Accepted: 15.01.2024

Conclusions. Analysis of the data obtained showed that the dominant volatile compounds in the ethanolic extract of the herb *A. micranthoides* Klok. et Krytzka are: Thymol (45.08 %), γ -Terpinen (7.8 %), *p*-Cymene (7.69 %), which we propose to use as marker compounds when conducting standardization.

Keywords: *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka, gas chromato-mass-spectrometry, volatile compounds, ethanol extracts.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):26-30

Відомо, що сучасний екологічний стан, радіаційне випромінювання, шкідливі звички, гіподинамія, неправильне харчування та стреси спричиняють накопичення в організмі надлишкової кількості вільних радикалів. Доведено участь вільнорадикальних механізмів у патогенезі атеросклерозу і його тромбонекротичних наслідків (інфаркт, інсульт), цукрового діабету, вікових змін, захворювань репродуктивної системи, онкологічних захворювань, а також зниження клітинного та гуморального імунітету [1].

Акумуляція вільних радикалів зумовлює збільшення ланцюгового перекисного окиснення, від якого захищають антиоксиданти [2]. Вони мають здатність запобігати окисненню біологічних структур організму вільними радикалами, що уповільнює процеси старіння та формування патологічних змін. Пріоритетним є використання природних антиоксидантів, які характеризуються м'якшою дією та нижчою токсичністю. Незважаючи на динамічний розвиток синтетичної хімії й активне впровадження нових препаратів, доцільним і перспективним є пошук нових субстанцій рослинного походження, здатних пригнічувати перекисне окиснення.

Перспективним об'єктом для фармакогностичного дослідження є трава *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka (син. *A. biebersteinii*) деревію подового, який має значне поширення та тривалий вегетаційний період [3].

Результати попередніх досліджень показали наявність антиоксидантної активності етанольного екстракту *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka [4], яка пов'язана з перериванням вільнорадикальних реакцій, що проходять на різних етапах оксидативного стресу. Біологічно активні сполуки, виділені з *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka, здатні виступати як скаведжери активних форм кисню та насамперед гідрофільних вільних радикалів. Зниження концентрації маркерів окиснювальної модифікації білка вказує на здатність екстрактивних речовин регулювати рівень гідрофільних вільних радикалів у клітині та свідчить про антиоксидантну дію досліджуваного екстракту [2].

У результаті попередніх досліджень встановили високий вміст поліфенольних сполук внаслідок накопичення під час вегетації. Ці сполуки характеризуються антиоксидантною активністю. Встановлено, що етанольні витяжки з трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka доцільно застосовувати як антиоксидантні засоби [5,6].

Відомо, що ще одним із класів біологічно активних сполук, які мають антиоксидантну активність, є леткі сполуки. Вони містять велику кількість різних за складом органічних сполук, основну масу яких становлять речовини ізопреноїдної структури – моно- і сесквітерпени, кисневмісні ароматичні сполуки: спирти, альдегіди,

кислоти, складні ефіри, лактони, а також вуглеводні та деякі гетероциклічні сполуки [7].

У доступних наукових джерелах недостатньо даних щодо хімічного складу, оскільки відомо, що леткі речовини представників родини *Achillea* L. використовують як антиоксидантні агенти [8,9,10].

Мета роботи

Вивчити леткі сполуки екстракту деревію подового трави (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) і встановити їхній компонентний склад.

Матеріали і методи дослідження

Як матеріал для дослідження обрали траву деревію подового з прилеглим листям. Сировину збирали на території Запорізької та Дніпропетровської областей протягом вегетаційного періоду (липень – жовтень) у 2019–2020 рр.

Ідентифікацію компонентів летких сполук здійснили методом тонкошарової хроматографії в рухомій фазі етилацетат-толуол (5:95). Витяги для хроматографування готували за визначеною методикою: до 2 г подрібненої на порошок сировини додавали 25 мл етилацетату, струшували протягом 5 хв, фільтрували та випарювали до сухого залишку на водяному огрівнику. Одержаний залишок розчиняли в 0,5 мл толуолу. Після висушування на повітрі хроматограми обробляли 1 % етанольним розчином анісового альдегіду та нагрівали за температури 100–105 °С протягом 3–5 хв. Компоненти летких сполук проявлялись як смуги червоного, синього або фіолетового кольору.

Етанольні екстракти готували методом дробної мацерації за такою методикою: 1,0 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ($d = 0,1$ мм) вносили в колбу ємністю 100 мл, додавали 25 мл спирту етилового 96 %, нагрівали на киплячому водяному огрівнику ВБ-4 місcomed ($t = 70$ – 80 °С) протягом 15 хв. Одержані витяги фільтрували в мірну колбу ємністю 100 мл. Екстракцію повторювали ще двічі за таких самих умов по 30 мл протягом 15 хв. Розчини охолоджували, об'єднані витяги фільтрували крізь фільтр «блакитна стрічка» у колбу ємністю 100 мл, запобігаючи потраплянню рослинної сировини на фільтр, який потім промивали 10 мл спирту етилового 96 %. До мірної колби ємністю 50 мл вносили 5 мл витягу і доводили об'єм тим самим розчинником до позначки.

Дослідження летких сполук здійснили методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ/МС) [11].

Компонентний склад летких сполук проаналізували на хроматографі Agilent Technology 7890 В з мас-спектрометричним детектором 597 на мікрокапілярних колонках у

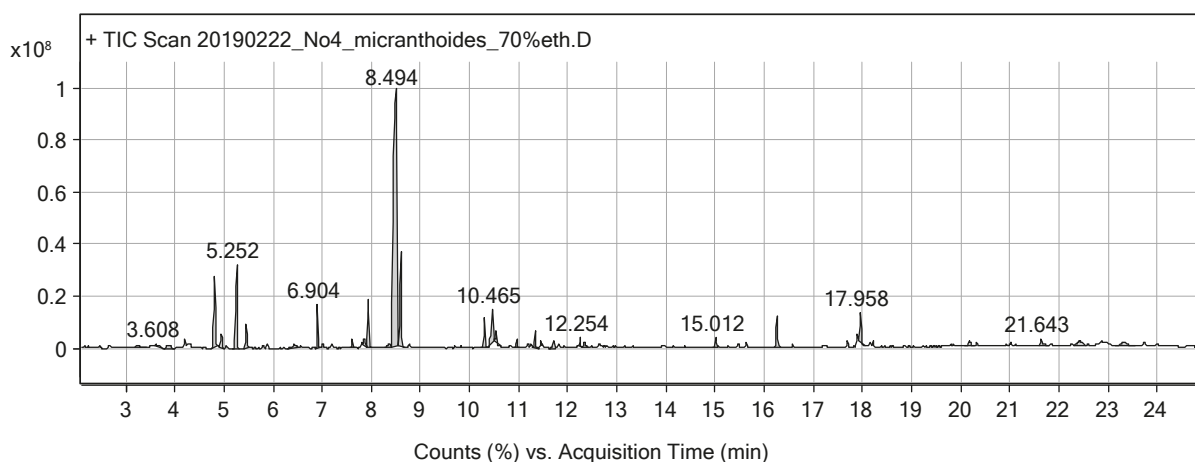


Рис. 1. Хроматограма етанольного екстракту *A. micranthoides* Klok. et Krytzka.

запрограмованому режимі. Хроматографічна колонка – DB-5ms завдовжки 30 м × 250 мкм × 0,25 мкм. Швидкість газу-носія (гелій) – 1,3 мл/хв. Об'єм інжекції – 0,5 мкл. Поділ потоку – 1:5. Температура блока введення проб – 200 °C → 12 °C/c → 265 °C. Температура термостата – програмована, 70 °C (затримка 1 хв) → 10 °C/хв → 270 °C (затримка 4 хв). Загальний час хроматографування – 25 хв. Температура інтерфейсу ГХ/МС – 275 °C, джерела іонів – 230 °C, квадрупольного мас-аналізатора

– 150 °C. Тип іонізації: EI при енергії електронів 70 eV. Діапазон масових чисел, що був сканований, – 30–700 m/z.

Для ідентифікації компонентів проб використана бібліотека мас-спектрів NIST14.

Результати

Результати досліджень летких сполук методом ГХ/МС наведено на рис. 1 й у таблиці 1.

Таблиця 1. Газова хромато-мас-спектрометрія компонентів летких сполук *A. micranthoides* Klok. et Krytzka.

Висота піка, RT	Компонент летких сполук <i>A. micranthoides</i> Klok. et Krytzka	Кількісний вміст, %
3,227	Dihydroxyacetone	0,51
3,608	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,3,3-trimethyl-	0,48
3,847	Camphene	0,67
4,811	<i>p</i> -Cymene	7,69
4,948	Eucalyptol	1,15
5,252	γ -Terpinene	7,8
5,449	Bicyclo-hexan-2-ol	1,58
6,43	н/в	0,74
6,904	Bicyclo-heptan-2-o	2,64
7,612	Benzene	0,46
7,851	Ascaridole	0,78
7,937	Thymoquinone	4,52
8,364	н/в	0,46
8,494	Thymol	45,08
8,597	3-Methyl-4-isopropylphenol	6,42
10,304	Caryophyllene	2,73
10,465	<i>p</i> -Cymene-2,5-dio	3,19
10,542	Aromandendrene	0,54
10,964	Naphthalene	0,69

Продовження таблиці 1.

Висота піка, RT	Компонент летких сполук <i>A. micranthoides</i> Klok. et Krytzka	Кількісний вміст, %
11,329	δ -Bisabolene	1,22
11,719	1 <i>H</i> -Benzocycloheptene	0,78
12,254	1 <i>H</i> -Cyclopropazulen-7-ol	0,56
12,338	Caryophyllene oxide	0,49
15,012	Phytol acetate	0,59
16,261	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	2,41
17,958	9,12,15-Octadecatrienoic acid	2,03
20,172	н/в	0,69
21,643	н/в	0,65
22,427	γ -Sitosterol	1,14
23,33	Lupeol	1,3

Обговорення

Для ідентифікації компонентів летких сполук використали метод хроматографії на тонкому шарі за допомогою етилацетатних витягів із листя та суцвіть досліджуваного виду. Як рухому фазу використали етилацетат-толуол у співвідношенні 5:95.

Після хроматографування з використанням 1 % етанолового розчину анісового альдегіду визначили зони забарвлення червоного, синього або фіолетового кольорів (різних відтінків). Інтенсивність забарвлення цих зон свідчила про наявність сполук терпенової природи в екстрактах.

Методом ГХ/МС визначено наявність 30 летких сполук у траві *A. micranthoides* Klok. et Krytzka, з них 26 ідентифіковано, що становило 86,76 % від загальної кількості. Виявили, що домінували такі компоненти, як thymol (45,08 %), γ -terpinene (7,8 %), *p*-cymene (7,69 %).

Згідно з відомостями фахової літератури, антиоксидантна активність властива таким біологічно активним сполукам, як thymol, γ -terpinene та *p*-cymene [12,13,14,15]. Враховуючи високу біологічну активність цих сполук, пропонуємо проводити стандартизацію саме за вмістом тимолу, γ -терпінену та цимену.

Висновки

1. Методом тонкошарової хроматографії встановлено наявність летких сполук в етанольному екстракті трави *A. micranthoides* Klok. et Krytzka.

2. Дослідження летких сполук етанольного екстракту трави *A. micranthoides* Klok. et Krytzka здійснили методом ГХ/МС і визначили наявність в етанольному екстракті трави 30 сполук, 26 з яких ідентифіковані.

3. У результаті визначення частки кожної з ідентифікованих речовин у загальній сумі летких сполук встановлено: домінуючі леткі сполуки в етанольному екстракті трави *A. micranthoides* Klok. et Krytzka – тимол (45,08 %), γ -терпінен (7,8 %) та *p*-цимен (7,69 %). Ці сполуки пропонуємо використовувати як маркерні під час стандартизації.

Перспективи подальших досліджень. Леткі сполуки етанольного екстракту трави *A. micranthoides* Klok. et Krytzka мають антиоксидантну активність, тому їх високий вміст дає змогу визначити сировину *A. micranthoides* Klok. et Krytzka як перспективну для створення нових лікарських засобів.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках спільної комплексної роботи кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Дуїн І. Ф., PhD, старший викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-1134-2543

Панченко С. В., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6668-1959

Information about authors:

Duiun I. F., PhD, Senior Lecturer of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Panchenko S. V., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Navaie BA, Kavoosian S, Fattahi S, Hajian-tilaki K, Asouri M, Bishe-kolaie R, et al. (). Antioxidant and Cytotoxic Effect of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of the Achillea Millefolium L. on MCF-7 Breast Cancer Cell Line. IBBJ. 2016;1(3):119-25.
2. Belenichev IF, Bak PG, Popazova OO, Bukhtiyarova NV, Yadlovsky OE. Nitric oxide-dependent mechanism of endothelial dysfunction formation is a promising target link for pharmacological management. Biopolym Cell. 2022;38(3):145-57. doi: 10.7124/bc.000A79

3. European Pharmacopoeia. 5th ed. Strasbourg; 2005. Vol. 2. p. 2667-8.
4. Zengin G, Aktumsek A, Ceylan R, Uysal S, Mocan A, Guler GO, et al. Shedding light on the biological and chemical fingerprints of three *Achillea* species (*A. biebersteinii*, *A. millefolium* and *A. teretifolia*). *Food Funct.* 2017; 8(3):1152-65. doi: [10.1039/c6fo01847e](https://doi.org/10.1039/c6fo01847e)
5. Dyun IF, Mazulin OV, Mazulin GV, Oproshanska TV. [The chemical composition of polyphenolic compounds *Achillea micranthoides* Klok. herbs]. *Farmatsevychnyi zhurnal.* 2020;75(1):80-7. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.1.20.09](https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.20.09)
6. Dujun IF, Mazulin OV, Mazulin GV. Study of polyphenolic compounds of *Achillea Micranthoides* Klok. et *Krytzka Herbs*. In: *Relevant issues of modern medicine : the experience of Poland and Ukraine. Proceedings of scientific and practical conference; 2017 Oct 20-21. Lublin, Republic of Poland; 2017. p. 126-9.*
7. Benzel LV, Darmohrai RY, Oliinyk PV, Benzel IL. *Likarski roslyny i fitoterapiia (fitoterapevtychna retseptura)*. Kyiv: Medytsyna; 2010. Ukrainian.
8. Toplan GG, Taşkın T, İşcan G, Göger F, Kürkçüoğlu M, Civaş A, et al. Comparative Studies on Essential Oil and Phenolic Content with In Vitro Antioxidant, Anticholinesterase, Antimicrobial Activities of *Achillea biebersteinii* Afan. And *A. millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. L. Growing in Eastern Turkey. *Molecules.* 2022;27(6):1956. doi: [10.3390/molecules27061956](https://doi.org/10.3390/molecules27061956)
9. Gaweł-Bęben K, Strzypek-Gomółka M, Czop M, Sakipova Z, Głowniak K, Kukula-Koch W. *Achillea millefolium* L. and *Achillea biebersteinii* Afan. Hydroglycolic Extracts-Bioactive Ingredients for Cosmetic Use. *Molecules.* 2020;25(15):3368. doi: [10.3390/molecules25153368](https://doi.org/10.3390/molecules25153368)
10. Zengin G, Aktumsek A, Ceylan R, Uysal S, Mocan A, Guler GO, et al. Shedding light on the biological and chemical fingerprints of three *Achillea* species (*A. biebersteinii*, *A. millefolium* and *A. teretifolia*). *Food Funct.* 2017;8(3):1152-65. doi: [10.1039/c6fo01847e](https://doi.org/10.1039/c6fo01847e)
11. Parashchuk EA, Marchyshyn SM, Slobodianiuk LV. [Research of volatile components of burnet saxifrage (*Pimpinella saxifraga* L.)]. *Medical and clinical chemistry.* 2019;20(4):107-13. Ukrainian. doi: [10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9822](https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9822)
12. Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Taei H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Front Pharmacol.* 2017;8:380. doi: [10.3389/fphar.2017.00380](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380)
13. Escobar A, Perez M, Romanelli G, Blustein G. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. *Arab J Chem.* 2020;13:9243-69. doi: [10.1016/j.arabjc.2020.11.009](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009)
14. de Oliveira TM, de Carvalho RB, da Costa IH, de Oliveira GA, de Souza AA, de Lima SG, et al. Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant. *Pharm Biol.* 2015;53(3):423-8. doi: [10.3109/13880209.2014.923003](https://doi.org/10.3109/13880209.2014.923003)
15. Krause ST, Liao P, Crocoll C, Boachon B, Förster C, Leidecker F, et al. The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in *Lamiaceae* proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(52):e2110092118. doi: [10.1073/pnas.2110092118](https://doi.org/10.1073/pnas.2110092118)



Визначення ізотонічності 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату

Д. Л. Усенко^{id}*A,B,C,D, А. Г. Каплаушенко^{id}C,E,F, Б. О. Варинський^{id}C,E

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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 – обґрунтувати склад 1 % водного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Матеріали та методи. Дослідження осмоляльності 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату здійснили за Державною фармакопеею України (2.2.35) криоскопічним методом. Розрахунки виконали на підставі вимірювання депресії температури кристалізації 1 % досліджуваного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату, 0,9 % розчину NaCl та води високої якості очистки (Q₃). Температуру кристалізації виміряли за допомогою термометра Бекмана ТЛ-1, який дає змогу здійснювати дослідження з великою точністю (до ±0,005 °C); це робить його корисним і найбільш ефективним при дослідженні ізотонічної концентрації.

Результати. Вимірювання температури кристалізації водних 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату, 0,9 % розчину NaCl, а також води високого ступеня очистки (Q₃) дало змогу розрахувати масу натрію хлориду. Його додавання до 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату дає змогу створити сумарну ізотонічну концентрацію.

Висновки. У результаті дослідження, ґрунтуючись на експериментальних даних щодо депресії температури кристалізації та розрахунках, встановили кількість натрію хлориду, що необхідна для приготування ізотонічного 1 % водного розчину АФІ натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Ключові слова: 1,2,4-тріазоли, активний фармацевтичний інгредієнт, ізотонічна концентрація, осмоляльність, парентеральна лікарська форма.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 31-34

Determination of the isotonicity 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate

D. L. Usenko, A. H. Kaplaushenko, B. O. Varynskyi

The aim of the work is to justify the composition of a 1 % aqueous solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate for parenteral use.

Materials and methods. The osmolality study of a 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate was conducted using the cryoscopic method according to the State Pharmacopoeia of Ukraine (2.2.35). The calculations were based on measuring the depression of the crystallization temperature of the 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate, 0.9 % NaCl solution, and high-purity water (Q₃). The measurements of crystallization temperature were performed using a Beckman TL-1 thermometer, which allows for research with high precision up to ± 0.005 °C, making it valuable and most effective for studying isotonic concentration.

Results. Temperature measurements of the crystallization of a 1 % solution under investigation, a 0.9 % NaCl solution, and high-quality purified water were conducted. Calculations of isotonic concentration were performed based on the measurement results.

Conclusions. Based on the obtained experimental data on the depression of the crystallization temperature and the calculations, the amount of sodium chloride necessary for the preparation of an isotonic 1 % aqueous solution of AFI sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate for parenteral use was established.

Keywords: 1,2,4-triazole, active pharmaceutical ingredient, isotonic concentration, osmolality, parenteral dosage form.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):31-34

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/292556>

UDC 544.352.4:547.792]-047.272
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.292556](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.292556)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):31-34

Keywords: 1,2,4-triazole, active pharmaceutical ingredient, isotonic concentration, osmolality, parenteral dosage form.

*E-mail: usenko.d.l@ukr.net

Received: 06.12.2023 // Revised: 26.12.2023 // Accepted: 15.01.2024

Похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону мають різноманітні біологічні властивості. Це обґрунтовує значний науковий інтерес дослідників, які займаються пошуком нових біологічно активних сполук [1,2,3].

Натрій 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат є активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) з експериментально доведеною акто- та стрес-протекторною дією [4]. Раніше здійснили дослідження, де вивчали закономірності утримування АФІ, а також технологічних домішок, як-от 2-(тіофен-2-іл)ацетогідразид, калій 2-(2-(тіофен-2-іл)ацетил)гідразин-1-карбодіонат і 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіон в умовах обернено-фазової хроматографії. Особливу увагу під час цього дослідження приділяли вивченню впливу складу елюенту на характеристики утримування. Крім того, здійснено дослідження термодинамічних функцій хроматографічного утримання АФІ та його домішок, де вдалося теоретично і практично розглянути термодинамічний процес перенесення названих речовин із рухомої фази в стаціонарну та вивчити залежність утримання сполук від температури [5].

Визначення осмоляльності розчинів АФІ – один із ключових етапів під час дослідження та розроблення лікарських форм для парентерального введення. Це важливе завдання забезпечує не лише якісний аналіз медичних засобів, але й гарантує їхню ефективність і безпеку для пацієнтів. Правильно встановлена ізотонічна концентрація є необхідним критерієм під час створення лікарських форм внутрішньовенного та внутрішньом'язового введення тощо.

Для парентерального застосування розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату повинен мати склад, що за показником осмотичного тиску максимально наближений до складу плазми крові та є ізотонічним. Тому визначення ізотонічної концентрації, розроблення умов і технології приготування мають важливе теоретичне і практичне значення для подальшого дослідження, реєстрації та застосування препарату.

Проаналізувавши джерела фахової літератури, що присвячена визначенню ізотонічної концентрації АФІ [6,7,8,9], встановили: під час такого дослідження використовують різні методи й підходи, але всі вони передбачають застосування високоточних технік і сучасних технологій. Зазвичай методи передбачають дослідження різних хімічних і фізичних процесів: хроматографії, спектроскопії та спектрофотометрії. Найбільш доступними і точними є методики, що засновані на вимірюванні депресії температури плавлення та передбачають використання термометра Бекмана (відхилення отриманих даних щодо температури відповідає $\pm 0,005$ °C). У таких експериментах термометр Бекмана використовують для вимірювання температури кристалізації досліджуваних розчинів. Потім, ґрунтуючись на результатах вимірювання, розраховують ізотонічні концентрації. Зазначимо, що Державна фармакопея

України (2.2.35) [10] рекомендує використання саме криоскопічного методу.

Наведені дослідження відіграють ключову роль у фармацевтичній індустрії, допомагаючи визначити оптимальні концентрації електроліту, що забезпечує ізотонічність за умови попередньо визначеної терапевтичної ефективності АФІ.

Мета роботи

Обґрунтувати склад 1 % водного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Матеріали і методи дослідження

Температури вимірювали згідно з вимогами, що наведені в Державній фармакопеї України (2.2.35), за допомогою термометра Бекмана ТЛ-1, який є метрологічно повіреним і дає змогу здійснювати дослідження з високою точністю (похибка до $\pm 0,005$ °C). За допомогою термометра Бекмана ТЛ-1 реєструють депресію температури плавлення досліджуваного розчину АФІ, ізотонічного розчину натрію хлориду та води високого ступеня очистки (Q_3) за допомогою шкали температури.

Виготовлення розчинів. Розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату виготовили з концентрацією 1 % (попередньо встановлена ефективна концентрація [1]) у воді високої чистоти Q_3 .

Реактиви. Натрій 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат синтезовано на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Кількісний вміст основної речовини визначено методом високоефективної рідинної хроматографії, застосували робочий фармацевтичний зразок; методика є запатентованою [11] (пріоритет належить Запорізькому державному медико-фармацевтичному університету).

Для виготовлення води високої чистоти (18 М Ω , 25 °C) використали систему Direct Q 3UV (Millipore, Мольсайд, Франція). Під час досліджень використовували розчин натрію хлориду 0,9 % 100 мл (Labesfal, Португалія, серія № 18T2102).

Результати

Осмоляльність – показник, що дає змогу оцінити сумарний внесок різних розчинених інгредієнтів в осмотичний тиск розчину. Одиницею осмоляльності є осмоль на кілограм розчинника (осмоль/кг), але на практиці зазвичай використовують міліосмоль на кілограм розчину. Осмоляльність визначають за зниженням температури замерзання розчину. Для визначення ізотонічної концентрації використано криоскопічний метод за Державною фармакопеєю України (2.2.35).

Для цього дослідження виготовили 1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату та 0,9 % розчин натрію хлориду. Депресію

Таблиця 1. Температура кристалізації води, 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату

Температура кристалізації (за термометром Бекмана)			
№	Вода	0,9 % розчин натрію хлориду	1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату
1	5,10	4,55	4,93
2	5,10	4,53	4,91
3	5,10	4,54	4,92
4	5,09	4,50	4,93
5	5,12	4,49	4,90
6	5,11	4,57	4,92
7	5,10	4,54	4,87
8	5,08	4,58	4,90
9	5,12	4,54	4,87
10	5,10	4,50	4,91
\bar{x}	5,10	4,53	4,91

температури замерзання цих розчинів порівняно з температурою замерзання води очищеної Q_3 виміряли за допомогою термометра Бекмана, який здатний реєструвати навіть незначні зміни температури за допомогою умовної шкали.

Результати визначення температури замерзання води очищеної Q_3 , 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату наведено в таблиці 1. Реєстрували температуру утворення перших кристалів, не допускаючи повного замерзання рідин.

Середнє значення температури кристалізації для води очищеної Q_3 , 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату наведено, враховуючи статистичний t-критерій Стьюдента, $n = 10$.

Депресія температури кристалізації 0,9 % розчину натрію хлориду щодо води очищеної Q_3 дорівнює $0,57^\circ\text{C}$, а 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату щодо відповідного показника для води очищеної Q_3 становить $0,19^\circ\text{C}$. Здійснили розрахунки, встановили, що ізотонічна концентрація розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату дорівнює:

$$C (\%) = (0,57 \times 1,0) / 0,19 = 3,0.$$

Отже, 3,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату формують ізотонічну концентрацію в 100 мл розчину.

Відповідно, потрібно встановити кількість натрію хлориду, необхідного для ізотонування 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату. Визначили, що 3,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату відповідають 0,9 г натрію хлориду (у 100 мл розчину),

а 1,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату – X г натрію хлориду:

$$X (\text{г}) = (0,9 \times 1,0) / 3,0 = 0,3.$$

Обговорення

Отже, кількість натрію хлориду, необхідна для ізотонування 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату становить: $0,9 \text{ г} - 0,3 \text{ г} = 0,6 \text{ г}$ натрію хлориду на 100 мл 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату.

Відповідна кількість натрію хлориду дає змогу зробити 1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату ізотонічним і за показником осмотичного тиску максимально наближеним до складу плазми крові.

Висновки

Згідно з експериментальними даними, для отримання ізотонічного 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування необхідно взяти 1 г АФІ, 0,6 г натрію хлориду на 100 мл води очищеної.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest.

Відомості про авторів:

Усенко Д. Л., аспірант каф. фізіологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7593-5482

Каплаушенко А. Г., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фізіологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3704-5539

Варинський Б. О., д-р фарм. наук, доцент каф. фізколоїдної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0000-0002-1551-8879

Information about authors:

Usenko D. L., PhD-student of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kaplaushenko A. H., PhD, DSc, Head of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Varynskyi B. O., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Safonov AA. [Synthesis, transformation, physicochemical and biological properties of 1,2,4-triazole derivatives, which form a thiophen-2-ylmethyl substituent] [dissertation] doctor of pharmaceutical sciences. Zaporizhzhia, (UA): Zaporizhzhia State Medical University; 2023. Ukrainian.
2. Usenko D, Varynskyi B, Kaplaushenko A. Thermodynamic Functions of Chromatographic Retention of Sodium 2-((4-Amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate and its Impurities. *Pharmakeftiki*. 2023;35(2):32-41. Available from: https://www.hsmc.gr/wp-content/uploads/2015/12/farmakeftiki_2_2023.pdf
3. Scatchard G, Hamer WJ, Wood SE. Isotonic Solutions. I. The Chemical Potential of Water in Aqueous Solutions of Sodium Chloride, Potassium Chloride, Sulfuric Acid, Sucrose, Urea and Glycerol at 25°. *J Am Chem Soc*. 1938;60(12):3061-70. doi: 10.1021/ja01279a066
4. Scatchard G, Breckenridge RC. Isotonic solutions. II. The chemical potential of water in aqueous solutions of potassium and sodium phosphates and arsenates at 25°. *J Phys Chem*, 1954;58(8):596-602. doi: 10.1021/j150518a005
5. Cadwallader de Jr, Husa WJ. Isotonic solutions. VI. The permeability of red corpuscles to various salts of organic acids. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1958;47(10):705-11. doi: 10.1002/jps.3030471008
6. Goyan FM, Reck D. A study of thermoelectric methods for determining isotonicity. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1955;44(1):43-7. doi: 10.1002/jps.3030440117
7. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2001. Ukrainian.
8. Usenko DL, Safonov AA, Varynskyi BO, Kaplaushenko AH, inventors; Zaporizhzhia State Medical University, assignee. [Method for quantitative determination of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate]. Ukrainian patent UA 127442. 2021 Aug 9.
9. Varynskyi B, Kaplaushenko A. Metabolism study of morpholinium 2-((4-(2-methoxyphenyl)-5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio) acetate. *current issues in pharmacy and medical sciences*. 2020;33(2):72-5. doi: 10.2478/cipms-2020-0014
10. Varynsky BO, Parchenko VV, Knysh EH, Panasenko OY, Kaplaushenko AH. Development and validation method for determination of the active ingredient of the drug "a vesstym" in the poultry eggs. *Azerbaijan pharmaceutical and pharmacotherapy journal*. 2017;17(2):10-7.
11. Shcherbyna R, Parchenko V, Varynskyi B, Kaplaushenko A. The development of HPLC-DAD method for determination of active pharmaceutical ingredient in the potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate substance. *Current issues in pharmacy and medical sciences*. 2019;32(1):5-9. doi: 10.2478/cipms-2019-0001



Study of factors influencing the occurrence of conflicts in pharmacies

T. P. Zarichna^{ID}A-F, N. M. Chervonenko^{ID}*A,B,C,E, N. O. Brahar^{ID}B,E

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical 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 study was to investigate the factors influencing the occurrence of conflicts in pharmacies during the provision of pharmaceutical care, with the subsequent goal of optimizing the social and psychological climate within the team and improving the quality of service to the population.

Materials and methods. Systematic-analytical, mathematical statistical, comparative, and sociological research methods were employed in the study. Descriptive statistics were utilized to present the obtained data. To assess the significance of individual factors, the questionnaire results were converted into corresponding component weights (W_{ij}).

Results. The study of conflicts between visitors and pharmacy employees, from the point of view of visitors, revealed several key findings. Most customers expressed dissatisfaction with the prices of medicines and medical devices ($W_{ij} = 1.00$). Additionally, there were concerns about the perceived quality of the products ($W_{ij} = 0.67$), and some customers reported feeling distressed due to the unavailability of necessary medicines ($W_{ij} = 0.57$). The study, conducted from the point of view of employees, focused on conflicts between employees and visitors. The findings revealed that conflicts most often arise due to dissatisfaction with the prices of medicines and medical devices ($W_{ij} = 1.00$). Additionally, issues such as requests to dispense over-the-counter medicines from the list of prescription drugs ($W_{ij} = 0.70$) and returning medicines to the pharmacy after purchase ($W_{ij} = 0.67$) were identified as contributing factors. The analysis of factors that provoke conflicts in the pharmacy team revealed several key contributors. The most significant include the inadequate behavior of employees ($W_{ij} = 1.00$), inconsistency in words, assessments, and actions of some team members with the expectations and requirements of others ($W_{ij} = 0.89$), and psychological incompatibility between employees ($W_{ij} = 0.88$). The study of conflicts between the administration and subordinates in the pharmacy revealed frequent occurrences linked to several factors. Most notably, conflicts were associated with an imperfect bonus system ($W_{ij} = 1.00$), high workload ($W_{ij} = 0.92$), and a perceived lack of career development opportunities ($W_{ij} = 0.76$).

Conclusions. The factors that contribute to the emergence of conflict situations in pharmacies have been identified and studied. Approaches to preventing and resolving conflicts by pharmacy employees are proposed.

Keywords: pharmacy, pharmaceutical care, conflict factors, pharmacy visitors.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 35-38

Дослідження факторів, що впливають на виникнення конфліктів в аптечних закладах

Т. П. Зарічна, Н. М. Червоненко, Н. О. Брагар

Мета роботи – дослідження факторів, які впливають на виникнення конфліктів в аптечних закладах при наданні фармацевтичної допомоги, з подальшою оптимізацією соціально-психологічного клімату в колективі та підвищенням якості обслуговування населення.

Матеріали і методи. У роботі використано системно-аналітичний, математико-статистичні, порівняльний і соціологічні методи дослідження. Для репрезентації одержаних даних застосовано методи описової статистики. Для визначення значущості окремих факторів їх оцінки, отримані в результаті анкетування, перераховано до відповідної питомої ваги компоненти (W_{ij}).

Результати. Вивчення конфліктів між відвідувачами та співробітниками аптек з погляду відвідувачів показало, що більшість покупців незадоволені цінами на ліки та медичні вироби ($W_{ij} = 1.00$), мають сумніви щодо їхньої якості ($W_{ij} = 0.67$), а також покупців пригнічує відсутність потрібних лікарських засобів ($W_{ij} = 0.57$). Дослідження конфліктів між працівниками та відвідувачами з погляду працівників дало змогу встановити, що найчастіше конфлікти виникають через незадоволеність цінами на ліки і медичні вироби ($W_{ij} = 1.00$), а також через прохання відпустити ліки без рецепта зі списку рецептурних препаратів ($W_{ij} = 0.70$) та повернення лікарських засобів в аптеку після придбання ($W_{ij} = 0.67$). Аналіз факторів, які провокують конфлікти в колективі аптек, засвідчив, що найбільш значущою є неадекватна поведінка співробітників ($W_{ij} = 1.00$), невідповідність слів, оцінок, вчинків одних членів колективу очікуванням, вимогам інших ($W_{ij} = 0.89$), а також психологічна несумісність між співробітниками ($W_{ij} = 0.88$). Вивчення конфліктів між

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/288375>

UDC 615.12:316.483:159.964.21
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.288375](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.288375)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):35-38

Keywords: pharmacy, pharmaceutical care, conflict factors, pharmacy visitors.

*E-mail: prirodnaya.26@gmail.com

Received: 04.10.2023 // Revised: 07.11.2023 // Accepted: 23.11.2023

адміністрацією і підлеглими в аптечному закладі засвідчило, що найчастіше конфлікти відбуваються через недосконалу систему преміювання ($W_{ij} = 1,00$), високий рівень завантаженості ($W_{ij} = 0,92$) і відсутність можливості кар'єрного зростання ($W_{ij} = 0,76$).

Висновки. Визначено та досліджено фактори, що спричиняють конфліктні ситуації в аптечних закладах. Запропоновано підходи щодо запобігання та розв'язання конфліктів працівниками аптек.

Ключові слова: аптека, фармацевтична допомога, конфліктні фактори, відвідувачі аптеки.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):35-38

Conflicts have become an everyday reality in contemporary society. Pharmacists, particularly those on the sales floor, often confront conflicts in their professional activities [1]. The majority of one's time at work involves interactions with management, colleagues, subordinates, and customers. The constrained nature of communication timelines exposes specialists to various factors that can lead to misunderstandings, ultimately giving rise to conflicts. The negative consequences of conflicts include people's dissatisfaction with common goals, avoidance of problem-solving, and the weakening of team cohesion, among other issues [2,3]. Furthermore, conflicts in pharmacies are often linked to a low level of socially responsible behavior among pharmacists [4].

Recent data have examined the most common causes of conflicts in pharmacies. Studies by M. Karimova and O. Makarenko explored potential types of conflicts among pharmacy employees, offering proposed solutions to address them [5]. Additionally, A. Chehrynets, H. Babicheva, and O. Rohula analyzed methods for overcoming and resolving conflict situations that can be employed by pharmacy professionals [6].

Nevertheless, the matters concerning the formation of the social and psychological climate within a team remain pertinent, as they are continually influenced by external factors over time.

Aim

The purpose of the study was to investigate the factors influencing the occurrence of conflicts in pharmacies during the provision of pharmaceutical care with the subsequent optimization of the social and psychological climate in the team and the improvement of the quality of service to the population.

Materials and methods

Systematic-analytical, mathematical statistical, comparative, and sociological research methods were employed in the study. Descriptive statistics were used to present the data obtained.

When planning the experiment, we have used Lark's approach to establishing the significance of certain parameters of trade enterprises [7].

To compile a list of factors that most frequently lead to conflicts in pharmacies, a specialized questionnaire comprising 15 questions was developed.

To assess the significance of these factors, the survey results were converted into corresponding component weights (W_{ij}). The responses for each factor were aggregated, with the factor receiving the highest score standardized to '1.'

The significance of other factors was then calculated as the ratio of the sum of responses to the parameter that attained the maximum score.

In total, 74 questionnaires were received from pharmacy visitors and 49 questionnaires from employees of the pharmacy chains of the municipal enterprise "Primula" and LLC "ANC" (Zaporizhzhia city).

To determine the rating of factors that shape consumer satisfaction with the work of pharmacists, additional studies were conducted to assess the importance of factors that influence consumer choice [7].

Results

The results of the survey of pharmacists and drug users on the occurrence of conflicts between them allowed us to identify the main factors that cause them (Table 1).

As can be seen from Table 1, the results of the survey of pharmacy visitors and pharmacists differ significantly.

In the second stage of the study, the factors influencing the occurrence of conflicts between pharmacy employees were investigated (Table 2).

Next, we studied the factors that influence the emergence of conflicts between the administration and staff of pharmacies. The results of the study are presented in Table 3.

Discussion

According to the results obtained, it was found that the majority of buyers are dissatisfied with the prices of medicines and medical devices ($W_{ij} = 1.00$) and also doubt their quality ($W_{ij} = 0.67$).

Quite often, there is a situation when the required medicine is unavailable in the pharmacy ($W_{ij} = 0.57$). Some visitors attempted to return purchased medicines to the pharmacy ($W_{ij} = 0.38$). The survey also indicated that visitors rarely encountered expired products ($W_{ij} = 0.31$), and instructions were consistently available, except when buying a single plate of a drug ($W_{ij} = 0.31$). The majority of respondents reported never requesting prescription drugs without a doctor's prescription ($W_{ij} = 0.30$) (Table 1).

According to pharmacists, the primary source of customer dissatisfaction lies in the prices of medicines and medical devices ($W_{ij} = 1.00$). Pharmacists also frequently encounter situations where they are asked to dispense medicines without a doctor's prescription from the list of prescription drugs ($W_{ij} = 0.70$). Conflicts occasionally arise when visitors attempt to return medicine to the pharmacy ($W_{ij} = 0.67$), a practice prohibited by law. Visitors express irritation when faced with the unavailability of some medicines at the mo-

Table 1. Significance of factors that influence the occurrence of conflicts between pharmacy visitors and pharmacists

From the point of view of pharmacy visitors			From the perspective of pharmacists		
Factors	Rank	Specific gravity of components (W_{ij})	Factors	Rank	Specific gravity of components (W_{ij})
Problems related to drug prices	1	1	Problems related to drug prices	1	1
Quality of medicines and medical devices	2	0.67	Refusal to dispense non-prescription drugs from the list of prescription drugs	2	0.70
Lack of necessary medicines in a given pharmacy	3	0.57	Refusal to take medicines back to the pharmacy	3	0.67
Refusal to take medicines back to the pharmacy	4	0.38	Lack of necessary medicines in a given pharmacy	4	0.59
Lack of instructions for use of medicines	5	0.31	Quality of medicines and medical devices	5	0.53
Dispensing of expired medicines	6	0.31	Dispensing of expired medicines	6	0.33
Refusal to dispense non-prescription drugs from the list of prescription drugs	7	0.30	Lack of instructions for use of medicines	7	0.31

Table 2. The importance of factors influencing the emergence of conflicts in the teams of pharmacies

Factors	Rank	Specific gravity of components (W_{ij})
Wrong actions of team members (personal disorganization, selfish desires, aggression)	1	1.00
The discrepancy between the words, assessments, and actions of some team members and the expectations and requirements of other team members	2	0.89
Psychological incompatibility of employees (clash of goals, attitudes, interests, motives)	3	0.88
Different views on the methods of fulfilling the assigned tasks	4	0.82
The presence of "difficult people" in the team ("aggressors", "complainers", "boredom") creates a state of social tension	5	0.81
Poor performance of functional duties by team members	6	0.71
Lack or distortion of information, misinterpretation of the tasks received	7	0.70
Competition between employees	8	0.70
Poor communication (lack of mutual understanding)	9	0.64
Differences in plans and goals	10	0.56

Table 3. The importance of factors influencing the emergence of conflicts between the administration and staff of pharmacies

Factors	Rank	Specific gravity of components (W_{ij})
Imperfect labor remuneration system	1	1.00
High level of workload	2	0.92
Lack of opportunities for job and professional growth	3	0.76
Unfavorable labor conditions	4	0.68
Unsatisfactory work and rest schedule	5	0.66
Low labor remuneration	6	0.66
Unfair distribution of rights and responsibilities	7	0.44
Unfair evaluation of employees and their work	8	0.40
Irrational selection and placement of personnel	9	0.35
Non-compliance with labor laws	10	0.35
Low level of discipline	11	0.34

ment ($W_{ij} = 0.59$). Additionally, some visitors voice complaints about the quality of medicines and medical devices ($W_{ij} = 0.53$), questionable expiration dates ($W_{ij} = 0.33$), and the absence of instructions for use ($W_{ij} = 0.31$).

In comparing responses to identical questions from both visitors and pharmacy employees, it was noted that they share similar opinions regarding the prices of medicines, expiration dates, and the availability of instructions. However, divergent views emerge in other aspects. Pharmacists assert that the quality of medicines is high, whereas some visitors express the belief that the quality of medicines is unsatisfactory.

The study identified the primary factors provoking conflicts within pharmacy teams. Foremost among them is the inadequate behavior of some employees, characterized by aggressiveness and selfishness ($W_{ij} = 1.00$). Following closely is the discrepancy between the words, assessments, and actions of certain team members and the expectations and requirements of others ($W_{ij} = 0.89$). Psychological incompatibility between employees also plays an equally crucial role ($W_{ij} = 0.88$). Frequently, the team faces division on how to fulfill assigned tasks ($W_{ij} = 0.82$). Within the pharmacy team, common challenges include dealing with ‘difficult people’ categorized as ‘aggressors,’ ‘complainers,’ and ‘boredom’ ($W_{ij} = 0.81$). Respondents also noted concerns about not all team members performing their functional duties well ($W_{ij} = 0.71$). Complaints about the lack or distortion of information ($W_{ij} = 0.70$) and competition between employees ($W_{ij} = 0.70$) were less frequent. Communication between employees received high satisfaction ratings across all surveyed pharmacies ($W_{ij} = 0.64$). The least significant factor contributing to conflicts was limited resources ($W_{ij} = 0.53$) (Table 2).

The study of conflicts between the staff and the administration revealed that they most often arise due to an imperfect bonus system ($W_{ij} = 1.00$). In 7 out of 9 pharmacies, there is no system of bonus incentives. The next factor is the high level of workload of pharmacists at the workplace ($W_{ij} = 0.92$). The majority of respondents believe that they do not have any opportunities for career growth ($W_{ij} = 0.76$). An important factor is unfavorable working conditions ($W_{ij} = 0.68$). Pharmacy employees say they are dissatisfied with their work-life balance ($W_{ij} = 0.66$) and salary ($W_{ij} = 0.66$). The distribution of responsibilities ($W_{ij} = 0.44$) and the evaluation of employees for their work ($W_{ij} = 0.40$), according to the respondents, are generally fair. Labor laws are observed in pharmacies ($W_{ij} = 0.35$). Managers and supervisors maintain a high level of discipline in the team ($W_{ij} = 0.34$). Respondents noted that salaries are always paid on time ($W_{ij} = 0.28$). Managers in pharmacies fully comply with work ethics ($W_{ij} = 0.27$).

Conclusions

1. The study identified and examined factors contributing to conflict situations in pharmacies, encompassing interactions between pharmacy visitors and pharmaceutical workers, among team members, and between the administration and the pharmaceutical team. The most significant factors have been highlighted.

2. Based on the study’s findings, the authors have proposed measures to reduce the level of conflict situations, aiming to optimize the socio-psychological climate within the team and enhance the quality of service to the population

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about authors:

Zarichna T. P., PhD, Associate Professor of the Department of the Management and Pharmacy Economics, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3711-4453

Chervonenko N. M., PhD, Associate Professor of the Department of Management and Pharmacy Economics, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-8126-7898

Brahar N. O., Teacher of the Second Category of the Medical Professional College, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0009-0007-8857-8796

Відомості про авторів:

Зарічна Т. П., канд. фарм. наук, доцент каф. управління та економіки фармації, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Червоненко Н. М., канд. фарм. наук, доцент каф. управління та економіки фармації, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Брагар Н. О., викладач другої категорії Медичного фахового коледжу, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Rodwin MA. Conflict of Interest in the Pharmaceutical Sector: A Guide for Public Management. *J. Health Care L.* 2019;2(1). Available from: <https://via.library.depaul.edu/jhcl/vol21/iss1/3>
- Kryvonos AV. Doslidzhennia prychyn vynykennia konfliktiv v aptekakh [Research on the causes of conflicts in pharmacies]. In: Management and marketing in the modern economy, science, education and practice. Proceedings of the 8th international scientific and practical remote conference [Internet]; 2020 Mar 19; Kharkiv, Ukraine: NFAU; 2020. p. 124. Ukrainian. Available from: <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/21984>
- Gregory PA, Austin Z. Conflict in community pharmacy practice: The experience of pharmacists, technicians and assistants. *Can Pharm J (Ott)*. 2016;150(1):32-41. doi: 10.1177/1715163516679426
- Tkachenko NO, Hromovik BP. [Conceptual analysis of social responsibility of the person and its integration in pharmaceutical practice]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2017;10(3): 342-8. Ukrainian. doi: 10.14739/2409-2932.2017.3.113624
- Karimova MM, Makarenko OV. Konfliktni situatsii v aptechnykh zakladakh [Conflict situations in pharmacies]. In: Achievements and prospects of management of the pharmaceutical system. Proceedings of the scientific and practical conference with international participation [Internet]; 2018 Lviv, Ukraine: Liha-Pres; 2018. p. 88-90. Ukrainian. Available from: <http://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4984>
- Chehrynets AA, Babicheva HS, Rohulia OY. Doslidzhennia prychyn vynykennia konfliktiv u protsesi nadannia farmatsevtichnoi dopomohy [Study of the causes of conflicts in the process of providing pharmaceutical care]. In: Management and marketing in the modern economy, science, education and practice. Proceedings of the 8th international scientific and practical remote conference [Internet]; 2020 Mar 19; Kharkiv, Ukraine: NFAU; 2020. p. 83-90. Ukrainian. Available from: <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/21973>
- Larka MI, Miroshnyk MV, Anokhin VA, Oliinyk IS. Suchasni tendentsii ta problemy rozvytku prohram loialnosti na spozhyvchomu rynku [Current trends and problems in the development of loyalty programs in the consumer market]. *Bulletin of the National Technical University "KhPI"*. 2013;66:129-7. Ukrainian.



Ідентифікація та аналіз експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу

Т. В. Іваненко^{1b}*A-F, А. В. Винокурова^{1b}B,C,D

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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

Цукровий діабет 2 типу є надзвичайно актуальним через його поширеність і вплив на глобальне здоров'я. Наукові дослідження продовжують удосконалювати розуміння механізмів розвитку та перебігу цукрового діабету загалом та ефективних стратегій діагностики й лікування цукрового діабету 2 типу зокрема. Це включає розробку нових фармакологічних методів лікування, зокрема нових антидіабетичних препаратів та індивідуальних підходів до терапії.

Механізми розвитку та перебігу цукрового діабету 2 типу є складними та включають різні аспекти фізіології та біохімії організму. Розуміння цих механізмів за допомогою сучасних методів лабораторної діагностики має вирішальне значення для розроблення ефективних методів лікування й профілактики діабету.

Мета роботи – визначення та аналіз панелі генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу.

Матеріали і методи. Аналіз експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, здійснили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) за допомогою набору RT²Profiler™ PCR Array Rat Diabetes (QIAGEN, Німеччина).

Результати. За результатами дослідження, активність генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, можна розподілити так: гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta Ct < 30$ (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*); гени, у яких не виявлено достовірних змін у зразках щодо контрольної групи (*Irs1*; *Irs2*; *Pik3cd*); гени з високою та невизначеною експресією порівняно з контрольною групою не виявлені.

Висновки. Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*), при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу мали достовірно (де $\Delta\Delta Ct < 30$) низьку (*Akt2* – 2,9 раза; *Mapk14* – 5,01 раза; *Pik3r1* – 8,87 раза) експресію порівняно з контрольною групою тварин. У генах *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу не виявлено достовірних змін щодо експресії генів контрольної групи експериментальних тварин.

Ключові слова: підшлункова залоза, цукровий діабет, гени, інсулін, лабораторна діагностика.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 39-43

Identification and analysis of the expression of genes, involved in insulin signals transmission in the development of experimental type 2 diabetes mellitus

T. V. Ivanenko, A. V. Vynokurova

Type 2 diabetes mellitus is a significant concern due to its high prevalence and impact on global health. Ongoing scientific research aims to enhance our understanding of the mechanisms involved in the development and progression of diabetes and devise effective strategies for its treatment. This involves the development of new pharmacological treatments, including novel antidiabetic drugs, and the exploration of individualized approaches to therapy.

The mechanisms underlying type 2 diabetes are intricate, involving various aspects of physiology and biochemistry. Gaining insight into the development and progression of type 2 diabetes mellitus through modern laboratory diagnostic methods is crucial for the development of effective treatment and prevention strategies for diabetes.

The aim of the study is to identify and analyze a panel of genes, involved in insulin signals transmission in the development of experimental type 2 diabetes mellitus.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/297509>

UDC 616.379-008.64:577.175.72:575]-07-092.4
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.297509](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.297509)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):39-43

Keywords: pancreas, diabetes mellitus, genes, insulin, laboratory diagnostics.

*E-mail: ivanenko.tv@zsmu.zp.ua

Received: 28.12.2023 // Revised: 19.01.2024 // Accepted: 23.01.2024

Materials and methods. The analysis of gene expression involved in insulin signal transmission was conducted using real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR) on the CFX-96 Touch™ system (Bio-Rad, USA). The RT2Profiler™ PCR Array Rat Diabetes kit (QIAGEN, Germany) was employed for this purpose.

Results. Based on the study results, the activity of the genes involved in insulin signal transmission can be categorized as follows: genes with low expression compared to the control group of animals, where $\Delta\Delta Ct < 30$ (*Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*); genes in which no significant changes were detected in the samples compared to the control group (*Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*); no genes with high expression were observed compared to the control group.

Conclusions. In the development of experimental type 2 diabetes mellitus, genes involved in insulin signal transmission (*Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*) exhibited significantly low expression levels (*Akt2* – 2.9, *Mapk14* – 5.01, *Pik3r1* – 8.87) where $\Delta\Delta Ct < 30$, compared to the control group of animals. Conversely, no significant changes were observed in the expression of genes *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, also involved in insulin signal transmission, during the development of experimental type 2 diabetes mellitus, compared to the control group of experimental animals.

Keywords: pancreas, diabetes mellitus, genes, insulin, laboratory diagnostics.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):39-43

Цукровий діабет 2 типу – хронічне порушення обміну речовин, що характеризується високим рівнем глюкози в крові, резистентністю до інсуліну та порушенням його секреції. Через свою поширеність та пов'язану з цим смертність цукровий діабет 2 типу становить складну проблему для сфери охорони здоров'я не лише в Україні, але й у всьому світі [1].

Перебіг цукрового діабету 2 типу спричиняє розвиток супутніх захворювань та ускладнень, що суттєво впливають на якість життя та призводять до смерті пацієнтів. До них належать серцево-судинні захворювання, ретинопатія, нефропатія, нейропатія та ризик ампутації нижніх кінцівок. Наукові дослідження постійно підкреслюють підвищення рівня захворюваності та смертності серед осіб із діабетом 2 типу порівняно з загальною популяцією [2].

Сидячий спосіб життя, нездорове харчування та ожиріння відіграють важливу роль у розвитку цукрового діабету 2 типу [3]. Наукові дослідження показали, що втрата ваги, здорове харчування та фізична активність запобігають або відтермінують початок діабету 2 типу в осіб із високим ризиком захворювання [4]. І генетичні, й екологічні фактори можуть вплинути на ризик розвитку цукрового діабету 2 типу [5].

Дослідження загальногеномних асоціацій показали численні генетичні варіанти, пов'язані з хворобою, що підкреслює її складну полігенну природу [6].

Наукові дослідження продовжують удосконалювати розуміння механізмів розвитку та перебігу цукрового діабету загалом та ефективних стратегій діагностики й лікування цукрового діабету 2 типу зокрема. Це включає розробку нових фармакологічних методів лікування, зокрема нових антидіабетичних препаратів та індивідуальних підходів до терапії [7]. Крім того, у дослідженнях підкреслюють важливість комплексного догляду, що передбачає зміну способу життя, регулярний моніторинг рівня глюкози в крові та навчання пацієнтів для оптимізації лікування захворювання і запобігання ускладненням [8].

Механізми розвитку та перебігу цукрового діабету 2 типу є складними та включають різні аспекти фізіології й біохімії організму. Покращення розуміння цих механізмів за допомогою сучасних методів лабораторної діагностики

має вирішальне значення для розроблення ефективних методів лікування й профілактики діабету.

Мета роботи

Визначення та аналіз панелі генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 10 білих щурах лінії Вістар, яких поділили на 2 групи (по 5 тварин у кожній). Тварини 1 групи входили до контрольної (інтактної) групи. Щурам 2 групи моделювання експериментального цукрового діабету 2 типу здійснили так: 18-місячним щурам-самцям лінії Wistar протягом 30 днів до загального раціону додавали 5 % від харчової маси гідрогенізовані рослинні жири та через день замінювали питну воду на 20 % водний розчин фруктози. Паралельно зі зміною харчового раціону з першого до сьомого та з двадцять четвертого до тридцятого дня підшкірно вводили дексаметазон у дозі 0,125 мг/кг.

Для чистоти досліду та лабораторного підтвердження розвитку експериментального цукрового діабету в щурів другої групи через 2 тижні після введення на 30 день дексаметазону в усіх експериментальних тварин визначали концентрацію глюкози в крові за допомогою глюкометра Gluco Card-II (Японія).

Після декапітації експериментальних тварин під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) проводили забір крові (для біохімічного визначення в ній інсуліну) та підшлункової залози, яку фіксували в розчині Буена (20 годин) і після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт (Mk Cormick, США).

Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) за допомогою набору RT²Profiler™ PCR Array Rat Diabetes (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження в експериментальних тварин була підшлункова залоза.

Статистичний аналіз даних полімеразної ланцюгової реакції виконали за допомогою програмного забезпечення PCR GeneGlobe (QIAGEN, Німеччина) з використанням $\Delta\Delta Ct$ методу [9].

Таблиця 1. Активність експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну щодо показників інтактних щурів

Гени з високою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$	Гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$	Гени, у яких не виявлено зміни в зразках щодо контрольної групи тварин	Гени, експресія яких не була виявлена
Немає	<i>Akt2</i> – в 2,9 раза; <i>Mapk14</i> – в 5,01 раза; <i>Pik3r1</i> – в 8,87 раза	<i>Irs1</i> ; <i>Irs2</i> ; <i>Pik3cd</i>	Немає

Результати

За результатами ПЛР-дослідження, активність генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, можна розподілити так: гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$, та гени, у яких не виявлені достовірні зміни в зразках щодо контрольної групи (табл. 1).

Обговорення

Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, кодують різноманітні білки, які відіграють ключову роль у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах. Деякі з основних генів, що пов'язані з сигнальною трансдукцією інсуліну та залучені до дослідження: *Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*, що показали низьку експресію порівняно з контрольною групою; *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd* – гени, у яких не виявлено зміни щодо контрольної групи.

Ген *Akt2* кодує протеїнкіназу В (ПКВ) або Akt2. *Akt2* – одна з ізоформ протеїнкінази В, що відіграє важливу роль в інсуліновому сигнальному шляху та регулюванні різних клітинних процесів. Коли інсулін зв'язується з інсуліновим рецептором на поверхні клітини, то це викликає активацію протеїнкінази В. Активована *Akt2* має ключове значення у регулюванні глюкозового обміну й інших процесів метаболізму, а також впливає на клітини. Зокрема, на глюкозовий транспорт – *Akt2* стимулює перенесення транспортного білка *GLUT4* на поверхню клітини, що полегшує поглинання глюкози; глікогеногенез – *Akt2* впливає на синтез глікогену, що призводить до збільшення зберігання глюкози як глікогену в клітинах, зокрема в м'язах та печінці; протеїнний синтез – *Akt2* стимулює синтез протеїнів та знижує їх розклад, сприяючи клітинному росту та відновленню. Мутації або дисфункції в цьому гені можуть призвести до порушень інсулінової чутливості та розвитку захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу [10].

Ген *Mapk14* кодує білок, відомий як Mitogen Activated Protein Kinase 14 (МАРК14), або p38 α . Це частина сімейства МАР-кіназ, що відіграють ключову роль у передачі сигналів різних зовнішніх стимулів: від факторів росту, стресу, запальних сигналів до внутрішньоклітинних процесів [11].

Mapk14 активується фосфорилляцією та має важливе значення в багатьох клітинних процесах, включаючи відповідь на стрес (відіграє роль у відповіді клітин на різноманітні стресові ситуації, як-от оксидативний або термічний стрес), апоптоз (може брати участь у регуляції апоптозу, впливаючи на шляхи, пов'язані з клітинною смертю), запальну відповідь (бере участь у відповіді

на запальні сигнали, де він може бути активований за допомогою різноманітних цитокинів та інших медіаторів запальної відповіді), регуляцію клітинного циклу (*Mapk14* може впливати на клітинний цикл, включаючи контроль над процесами проліферації та поділу клітин).

Дефекти або неадекватна активація *Mapk14* можуть бути пов'язані з розвитком різних захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу з відповідними ускладненнями, запальних процесів та пухлин [11].

Ген *Pik3r1* кодує регуляторну субодиницю класу І фосфоінозитид-3-кінази, відомої як PI3K (фосфатидилінозитол-3-кіназа), що відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів, особливо щодо інсуліну та інших факторів росту.

Pik3r1 має кілька варіантів сплайсингу, і його продукт p85 α може об'єднуватися з каталітичною субодиницею PI3K для утворення активного ферменту. Головні функції *Pik3r1* (p85 α) включають медіацію сигнальних шляхів (PI3K активується через p85 α та спричиняє відповідну активацію сигнальних шляхів, як-от шлях АКТ, що впливає на клітинні відповіді); вплив на клітинний цикл і проліферацію (активація PI3K може впливати на регуляцію клітинного циклу та проліферацію клітин) [12].

Мутації або зміни в гені *Pik3r1* можуть впливати на інсулінову чутливість і відігравати роль у розвитку різних захворювань, наприклад, цукрового діабету 2 типу та раку [13].

Ген *Irs1* (Insulin Receptor Substrate 1) кодує білок, відомий як інсуліновий рецепторний субстрат 1. Цей білок відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів від інсулінового рецептора, який знаходиться на поверхні клітин, до внутрішньої частини клітини.

Основна функція *Irs1* включає такі аспекти: фосфорилляція під дією інсуліну (під впливом інсуліну інсуліновий рецептор фосфорилує *Irs1*, створюючи активацію для інших білків, та регулює активність інсулінового сигнального шляху); активація сигнальних шляхів (фосфорильований *Irs1* взаємодіє з різними сигнальними білками, як-от PI3K (фосфоінозитид-3-кіназа) та АКТ (протеїнкіназа В), що сприяє впливу інсуліну на клітинні процеси); регулювання глюкозового обміну (інсулін через взаємодію з *Irs1* сприяє поглинанню глюкози клітинами, що дає змогу знижувати рівень глюкози в крові). *Irs1* є ключовою ланкою у внутрішньоклітинній передачі сигналів інсуліну та глюкагону; регулювання обміну жирів і білків – сигнальні шляхи, активовані через *Irs1*, впливають на метаболічні процеси, включаючи синтез і збереження жирів, а також протеїновий обмін [14].

Дефіцит або дисфункція *Irs1* можуть призводити до порушень інсулінової чутливості та розвитку захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу [15].

Ген *Irs2* (Insulin Receptor Substrate 2) кодує іншу форму інсулінового рецепторного субстрату, яка відома як *Irs2*. Подібно до *Irs1*, цей білок відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів інсуліну та інших різних факторів росту. Основні функції *Irs2* включають активацію сигнальних шляхів (після того, як інсулін або інші фактори росту активують інсуліновий рецептор, *Irs2* стає фосфорильованим, що дає йому змогу взаємодіяти з різними сигнальними білками); поглинання глюкози (інсулін активує сигнальні шляхи через *Irs2*, що сприяє поглинанню глюкози клітинами); регулювання метаболізму (*Irs2* бере участь у регулюванні метаболічних процесів: синтезу білків, обміну глюкози та жирів) [16].

Зауважимо: хоча *Irs1* та *Irs2* виконують подібні функції у передачі сигналів інсуліну, вони можуть мати різні тканинно-специфічні властивості та взаємозамінювані функції в різних типах клітин і тканин. Мутації або дисфункція гена *Irs2* може впливати на інсулінову чутливість і розвиток цукрового діабету 2 типу [16].

Ген *Pik3cd* кодує каталітичну субодиницю класу І фосфоінозитид-3-кінази (PI3K), відомої як PI3Kδ. PI3Kδ є частиною класу фосфоінозитид-3-кіназ, що мають важливе значення для внутрішньоклітинної передачі сигналів. Конкретно PI3Kδ здійснює фосфорильовання фосфоінозитидів, активуючи каскад сигналів, що призводить до різних клітинних відповідей. Основні функції PI3Kδ включають активацію сигнального шляху АКТ (протеїнкіназа В – PI3Kδ генерує фосфоінозитиди, що активують сигнальний шлях АКТ, який впливає на різноманітні клітинні процеси, як-от виживання, проліферація та метаболізм), регуляцію клітинного апоптозу (PI3Kδ може впливати на різні шляхи, що регулюють апоптоз, включаючи шлях АКТ), вплив на клітинну міграцію та адгезію (PI3Kδ відіграє роль у вирішальних клітинних процесах – міграції та адгезії клітин), участь у запальних відповідях (PI3Kδ бере участь у виникненні запальних відповідей і може бути активованим через різні сигнали, включаючи сигнали від рецепторів запальних цитокінів). Мутації у гені *Pik3cd* або дисфункція PI3Kδ можуть бути пов'язані з розвитком різних захворювань, включаючи цукровий діабет 2 типу [17,18].

Ідентифікація сучасними методами лабораторної діагностики і наступний аналіз генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, дають змогу зрозуміти молекулярні механізми та зміни в них при експериментальному цукровому діабеті 2 типу, що надалі може бути використано як мішень терапевтичного впливу.

Висновки

1. Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*), при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу мали достовірно (де ΔΔCt <30) низьку експресію порівняно з контрольною групою тварин.

2. У генах *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу не виявлено достовірних змін щодо експресії генів контрольної групи експериментальних тварин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6617-5178

Винокурова А. В., аспірант каф. клінічної лабораторної діагностики, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0008-5380-6071

Information about authors:

Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Vynokurova A. V., MD, Postgraduate student of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Ahmad A, Lim LL, Morieri ML, Tam CH, Cheng F, Chikowore T, et al. Precision prognostics for cardiovascular disease in Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Commun Med (Lond)*. 2024;4(1):11. doi: 10.1038/s43856-023-00429-z
- Buso G, Aboyans V, Mazzolai L. Lower extremity artery disease in patients with type 2 diabetes. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(2_suppl):114-24. doi: 10.1177/2047487319880044
- Shali S, Luo L, Yao K, Sun X, Wu H, Zhang S, et al. Triglyceride-glucose index is associated with severe obstructive coronary artery disease and atherosclerotic target lesion failure among young adults. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):283. doi: 10.1186/s12933-023-02004-1
- Schmidt SK, Hemmestad L, MacDonald CS, Langberg H, Valentiner LS. Motivation and Barriers to Maintaining Lifestyle Changes in Patients with Type 2 Diabetes after an Intensive Lifestyle Intervention (The U-TURN Trial): A Longitudinal Qualitative Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(20):7454. doi: 10.3390/ijerph17207454
- García-Chapa EG, Leal-Ugarte E, Peralta-Leal V, Durán-González J, Meza-Espinoza JP. Genetic Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexican Mestizos. *Biomed Res Int*. 2017;2017:3937893. doi: 10.1155/2017/3937893
- Mahajan A, Spracklen CN, Zhang W, Ng MC, Petty LE, Kitajima H, et al. Multi-ancestry genetic study of type 2 diabetes highlights the power of diverse populations for discovery and translation. *Nat Genet*. 2022;54(5):560-72. doi: 10.1038/s41588-022-01058-3
- Ferguson D, Finck BN. Emerging therapeutic approaches for the treatment of NAFLD and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(8):484-95. doi: 10.1038/s41574-021-00507-z
- Kanaley JA, Colberg SR, Corcoran MH, Malin SK, Rodriguez NR, Crespo CJ, et al. Exercise/Physical Activity in Individuals with Type 2 Diabetes: A Consensus Statement from the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc*. 2022;54(2):353-68. doi: 10.1249/MSS.0000000000002800
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262
- Xia T, Xu WJ, Hu YN, Luo ZY, He W, Liu CS, et al. Simiao Wan and its ingredients alleviate type 2 diabetes mellitus via IRS1/AKT2/FOXO1/GLUT2 signaling. *Front Nutr*. 2023;9:1012961. doi: 10.3389/fnut.2022.1012961
- Meng W, Veluchamy A, Hébert HL, Campbell A, Colhoun HM, Palmer CN. A genome-wide association study suggests that MAPK14 is associated with diabetic foot ulcers. *Br J Dermatol*. 2017;177(6):1664-70. doi: 10.1111/bjd.15787

12. Zheng Y, Lang Y, Qi Z, Gao W, Hu X, Li T. PIK3R1, SPNB2, and CRYAB as Potential Biomarkers for Patients with Diabetes and Developing Acute Myocardial Infarction. *Int J Endocrinol.* 2021;2021:2267736. doi: [10.1155/2021/2267736](https://doi.org/10.1155/2021/2267736)
13. Karadoğan AH, Arikoglu H, Göktürk F, İşçioğlu F, İpekçi SH. PIK3R1 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes and related features in the Turkish population. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(7):921-7. doi: [10.17219/acem/68985](https://doi.org/10.17219/acem/68985)
14. Yiannakouris N, Cooper JA, Shah S, Drenos F, Ireland HA, Stephens JW, et al. IRS1 gene variants, dysglycaemic metabolic changes and type-2 diabetes risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(12):1024-30. doi: [10.1016/j.numecd.2011.05.009](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.05.009)
15. Martínez-Ramírez OC, Salazar-Piña A, Cerón-Ramírez X, Rubio-Lightbourn J, Torres-Romero F, Casas-Avila L, et al. Effect of Inulin Intervention on Metabolic Control and Methylation of *INS* and *IRS1* Genes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrients.* 2022;14(23):5195. doi: [10.3390/nu14235195](https://doi.org/10.3390/nu14235195)
16. Krause C, Geißler C, Tackenberg H, El Gammal AT, Wolter S, Spranger J, et al. Multi-layered epigenetic regulation of IRS2 expression in the liver of obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2020;63(10):2182-93. doi: [10.1007/s00125-020-05212-6](https://doi.org/10.1007/s00125-020-05212-6)
17. Du X, Li X, Chen L, Zhang M, Lei L, Gao W, et al. Hepatic miR-125b inhibits insulin signaling pathway by targeting PIK3CD. *J Cell Physiol.* 2018;233(8):6052-66. doi: [10.1002/jcp.26442](https://doi.org/10.1002/jcp.26442)
18. He FT, Fu XL, Li MH, Fu CY, Chen JZ. USP14 Regulates ATF2/PIK3CD Axis to Promote Microvascular Endothelial Cell Proliferation, Migration, and Angiogenesis in Diabetic Retinopathy. *Biochem Genet.* 2023;61(5):2076-91. doi: [10.1007/s10528-023-10358-0](https://doi.org/10.1007/s10528-023-10358-0)



Прогностичне значення рівня активіну А в пацієнтів із поширеним раком легень і саркопенією

В. В. Кечеджійєв *

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

Мета роботи – оцінити прогностичну роль активіну А в пацієнтів із поширеним раком легень і саркопенією.

Матеріали і методи. Обстежили 40 пацієнтів із поширеною аденокарциномою легень, які перебували на лікуванні в медичному центрі «ОНКОЛАЙФ» у 2020–2022 рр. За допомогою комп'ютерної томографії (КТ) виміряли скелетно-м'язовий індекс (СМІ) на рівні третього поперекового хребця, результат наведено у cm^2/m^2 . Критерій наявності саркопенії відповідно до СМІ, що визначений під час КТ, становив $<55 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ для чоловіків і $<39 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ для жінок. Визначення активіну А (DAC00B, RnD Systems) здійснили імуноферментним методом, що ґрунтується на використанні «сендвіч»-варіанта твердофазного імуноферментного аналізу.

Результати. Загальна виживаність у пацієнтів із високим показником активіну А була гіршою, ніж у хворих із низьким рівнем: 22,7 % і 64,2 % відповідно, $p = 0,017$ за лог-ранговим тестом.

Висновки. Високий рівень активіну А у плазмі крові може спричиняти погіршення тяжкості саркопенії, тим самим впливаючи на виживаність онкологічних хворих. Розуміння та пошук нових молекулярних мішеней, що лежать в основі м'язової деградації, допоможуть визначити новий потенціал для лікування пацієнтів із поширеним злоякісним новоутворенням.

Ключові слова: активін А, саркопенія, аденокарцинома легень, виживаність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 44-47

Prognostic value of activin A level in patients with advanced lung cancer and sarcopenia

V. V. Kechedzhiyev

The aim of this work is to determine the prognostic role of activin A in patients with advanced lung cancer and sarcopenia.

Materials and methods. Forty patients with advanced pulmonary adenocarcinoma who received treatment in the medical center "ONCOLIFE" from 2020 to 2022 were studied. Computed tomography (CT) was used to measure skeletal muscle index at the third lumbar vertebra level expressed in cm^2/m^2 . The criteria for sarcopenia using CT was $<55 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ for men and $<39 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ for women. Determination of activin A (DAC00B, RnD Systems) was carried out by the immunoenzymatic method based on using the "sandwich" variant of solid-phase immunoenzymatic analysis.

Results. Overall survival in patients with a high level of activin A was worse than in patients with a low level (22.7 % vs. 64.2 % respectively; $p = 0.017$ by the log-rank test).

Conclusions. A high level of activin A in the blood plasma can contribute to the worsening of the severity of sarcopenia, thereby affecting the survival of cancer patients. Understanding and finding new molecular targets underlying muscle atrophy will help identify new potential for treating patients with advanced cancer.

Keywords: activins, sarcopenia, lung adenocarcinoma, survival.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):44-47

Останнім часом саркопенія у хворих на злоякісні новоутворення набуває значного поширення [1]. Цей синдром має істотний вплив на виживаність і якість життя онкологічних пацієнтів [2]. Нині здійснюються рандомізовані контрольовані дослідження, що спрямовані на зниження втрати м'язової маси [2]. Незважаючи на інтенсивні дослідження, механізми саркопенії залишаються все ще недостатньо вивченими, тому очікується, що інгібування

процесу втрати м'язів може бути ефективною стратегією для її лікування [3].

Активін А бере участь в інгібуванні розвитку та росту скелетних м'язів [3]. Підвищена експресія активіну спричиняє атрофію м'язів і кахексію [3]. Активін А є членом родини білків трансформувального фактора росту- β (TGF- β) [4]. Одна з біологічних активностей цього білка – вплив на деградацію та атрофію скелетних м'язів [4].

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/293093>

UDC 616.24-006.6-06:616.74-018.6-007.23-053.9]-037:577.112.088
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.293093](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.293093)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):44-47

Keywords: activins, sarcopenia, lung adenocarcinoma, survival.

*E-mail: kechedzhiyev94@gmail.com

Received: 28.11.2023 // Revised: 14.12.2023 // Accepted: 18.12.2023

Зв'язок між високим рівнем активіну А та низьким показником виживаності досліджували при різних типах злоякісних новоутворень. Так, у дослідженні S. Lyu et al. за участю 239 пацієнтів із плоскоклітинним раком стравоходу визначали експресію активіну А за допомогою імуногістохімічного методу дослідження [5]. Статистично підтверджено, що пацієнти з низьким рівнем експресії активіну А мали значно кращий прогноз, ніж хворі з високим рівнем [5]. Медіана загальної виживаності становила 58 місяців для пацієнтів із низькою експресією активіну А, а для хворих із високою експресією цей показник становив 37 місяців ($p = 0,001$) [5].

У дослідженні N. Daitoku et al. оцінювали експресію активіну А у зразках тканини колоректального раку [4]. Встановили, що висока експресія активіну А значущо пов'язана з меншою загальною ($p = 0,014$) та канцер-специфічною виживаністю ($p = 0,047$) [4].

Zhong X. et al. показали, що у пацієнтів з аденокарциномою підшлункової залози тяжкість кахексії посилюється з експресією активіну [6]. Встановили, що активін А може бути ключовим фактором саркопенії, який корелює з виживаністю в онкологічних пацієнтів [3].

Отже, актуальним залишається вивчення зв'язку активіну А з виживаністю саме в пацієнтів із саркопенією та поширеною аденокарциномою легень.

Мета роботи

Оцінити прогностичну роль активіну А в пацієнтів із поширеним раком легень і саркопенією.

Матеріали і методи дослідження

У дослідження залучили 40 пацієнтів із раком легень IV стадії, які перебували на лікуванні в медичному центрі «ОНКОЛАЙФ» (м. Запоріжжя) у 2020–2022 рр. Середній період спостереження становив 24 місяці. Обстежили 16 жінок і 24 чоловіків. Діагноз злоякісного новоутворення підтверджено гістологічним методом. У групу контролю залучили 15 умовно здорових пацієнтів. Усі обстежені надали письмову інформовану згоду на участь перед залученням до дослідження.

Критерії залучення – діагностована поширена аденокарцинома легень, вік понад 18 років, статус за шкалою Східної об'єднаної групи онкологів (ECOG) ≤ 2 , скелетно-м'язовий індекс на рівні L3 $< 55 \text{ см}^2/\text{м}^2$ для чоловіків та $< 39 \text{ см}^2/\text{м}^2$ для жінок, очікувана виживаність – більше ніж 3 місяці. Критерії виключення – статус за шкалою ECOG ≥ 3 , наявність супутньої тяжкої патології.

За допомогою програмного забезпечення ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) обрахували площу поперечного перерізу скелетних м'язів [7]. У всіх пацієнтів на час залучення до дослідження за допомогою комп'ютерної томографії (КТ) виміряно скелетно-м'язовий індекс (СМІ) на рівні третього поперекового хребця, результат наведено в $\text{см}^2/\text{м}^2$. Критерій наявності саркопенії відповідно до СМІ, що визначений

під час КТ, становив $< 55 \text{ см}^2/\text{м}^2$ для чоловіків і $< 39 \text{ см}^2/\text{м}^2$ для жінок.

Імуноферментне дослідження здійснили у плазмі крові, яку одержували за стандартною методикою. Зразки зберігали у низькотемпературній морозильній камері при температурі $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 1 року. Активін А (DAC00B, RnD Systems) визначили імуноферментним методом, що ґрунтується на використанні «сендвіч»-варіанта твердофазного імуноферментного аналізу. Процедура здійснили з використанням імуноферментного комплексу ImmunoChem-2100 (США). Аналіз виконали в 96-ямкових мікропланшетах, дно лунок яких вкрите моноклональними антитілами до відповідного молекулярного маркера. Зразки плазми крові вносили до відповідних лунок мікропланшетів та інкубували протягом необхідного часу. Після етапів промивання реагенти видаляли з лунок мікропланшетів, а також вносили додаткові реагенти, які згодом вимивали. Аналіз здійснили при додаванні колориметричного реагенту, результуючий сигнал вимірювали спектрофотометрично при 450 нм. Концентрація показників, що аналізували, наведена у пг/мл.

Кумулятивну загальну виживаність пацієнтів визначали за допомогою аналізу виживаності Каплана–Маєра з використанням лог-рангового критерію. Показники груп дослідження порівнювали за допомогою критерію Манна–Вітні. Результати вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Для статистичного опрацювання даних використали програму IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

Результати

Рівень активіну А вимірювали в зразках плазми 40 пацієнтів із раком легень і 15 осіб із групи контролю. Групи обстежених зіставні за віком і статтю пацієнтів. У контрольній групі медіана концентрації активіну А в плазмі крові становила 254 пг/мл. У пацієнтів з аденокарциномою легень та наявністю синдрому саркопенії відповідні концентрації значно вищі – медіана дорівнювала 621 пг/мл ($p < 0,05$).

Для оцінювання зв'язку між рівнями активіну А та виживаністю пацієнтів поділили на дві групи: з високою концентрацією та низькою концентрацією. Під час поділу як порогове значення використали медіану.

Встановили, що загальна виживаність у пацієнтів із високим показником активіну А була гіршою, ніж у хворих із низьким рівнем: 22,7 % та 64,2 % відповідно, $p = 0,017$ за лог-ранговим тестом (рис. 1). Медіана загальної виживаності хворих із високим рівнем становила 13 місяців, а в пацієнтів із низьким рівнем медіана не була досягнута (більше ніж 50 % живі), $p < 0,05$.

Обговорення

Молекулярний патогенез онкологічних захворювань досі залишається невизначеним. Актуальним є питання щодо необхідності виявлення додаткових біомаркерів,

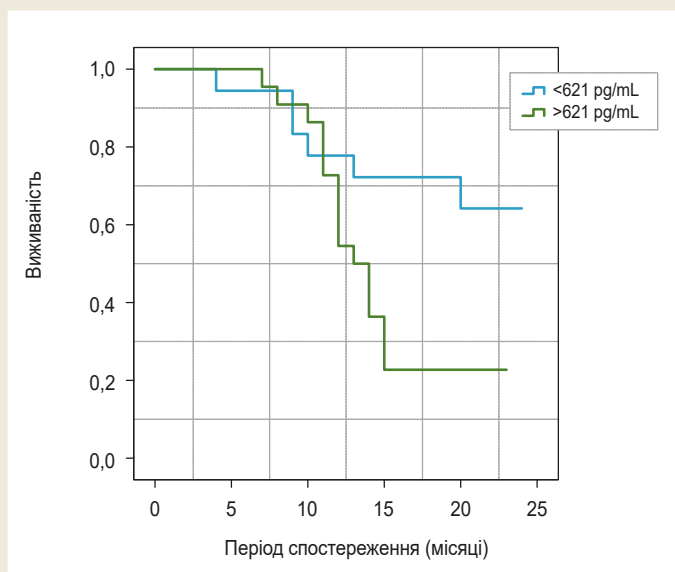


Рис. 1. Вживаність пацієнтів із поширеним раком легень і саркопенією залежно від рівня активіну А в плазмі.

що можуть мати терапевтичну цінність у лікуванні онкологічних пацієнтів [4].

У дослідженні J. Paajanen et al. показано: рівень циркулюючого активіну А підвищений у пацієнтів з мезотеліоною плеври, а також пов'язаний із раковою кашецією та зниженою відповіддю на хіміотерапевтичне лікування [8]. У дослідженні J. Bauer et al. також встановлено, що у хворих на колоректальний рак рівень активіну А значно вищий при метастатичному процесі порівняно з пацієнтами без метастазів [9]. Отже, висока концентрація активіну А, встановлена за допомогою імуоферментного дослідження плазми крові, є прогностичним маркером виживаності в пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями.

Втім, встановили, що активін А має лімітуючий вплив щодо розвитку таких типів онкологічних захворювань, як рак молочної залози, дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома, рак передміхурової залози, печінки [10]. При цих новоутвореннях сигнали активіну пригнічують ріст пухлинних клітин, а в пухлинній тканині спостерігають зниження рівня активіну А та підвищення рівня антагоністів активіну [10].

Сьогодні продовжують клінічні дослідження з питань впливу на саркопенію в онкологічних пацієнтів. Однак молекулярно-біологічні механізми активіну А досі залишаються невивченими. Відтак актуальзується необхідність пошуку нових терапевтичних підходів, що допоможуть зменшити втрату м'язової маси. Одним із таких механізмів може бути інгібування активіну А. Проте досі не відомо, які пацієнти можуть мати найбільшу ймовірність отримати користь від цих ефектів. Для вивчення цього питання необхідні рандомізовані клінічні дослідження.

Під час дослідження, що здійснили, встановили: високий рівень активіну А пов'язаний із низькою виживаністю пацієнтів із саркопенією та поширеною аденокарциномою легень. Розуміння та пошук нових

молекулярних мішеней, що лежать в основі м'язової деградації, допоможуть визначити новий потенціал для лікування таких пацієнтів.

Отже, високий рівень активіну А у плазмі може спричинити погіршення тяжкості саркопенії, тим самим впливаючи на виживаність онкологічних хворих.

Висновки

Висока концентрація активіну А у плазмі крові є важливим прогностичним маркером у пацієнтів із саркопенією та поширеною аденокарциномою легень.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні інших молекулярних мішеней для поглиблення розуміння патогенетичних механізмів саркопенії в пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями. Це сприятиме ефективному впровадженню персоналізованого лікування таких хворих.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Відомості про автора:

Кечеджійєв В. В., аспірант каф. онкології та онкохірургії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0800-3209](https://orcid.org/0000-0003-0800-3209)

Information about author:

Kechedzhyiev V. V., MD, PhD student of the Department of Oncology and Surgical Oncology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Anjanappa M, Corden M, Green A, Roberts D, Hoskin P, McWilliam A, Choudhury A. Sarcopenia in cancer: Risking more than muscle loss. *Tech Innov Patient Support Radiat Oncol.* 2020;16:50-7. doi: [10.1016/j.tipsro.2020.10.001](https://doi.org/10.1016/j.tipsro.2020.10.001)

2. Hilmi M, Jouinot A, Burns R, Pigneur F, Mounier R, Gondin J, et al. Body composition and sarcopenia: The next-generation of personalized oncology and pharmacology? *Pharmacol Ther.* 2019;196:135-59. doi: [10.1016/j.pharmthera.2018.12.003](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.12.003)
3. Loumaye A, de Barsy M, Nachit M, Lause P, van Maanen A, Trefois P, et al. Circulating Activin A predicts survival in cancer patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2017;8(5):768-77. doi: [10.1002/jcsm.12209](https://doi.org/10.1002/jcsm.12209)
4. Daitoku N, Miyamoto Y, Hiyoshi Y, Tokunaga R, Sakamoto Y, Sawayama H, et al. Activin A promotes cell proliferation, invasion and migration and predicts poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep.* 2022;47(6):107. doi: [10.3892/or.2022.8318](https://doi.org/10.3892/or.2022.8318)
5. Lyu S, Jiang C, Xu R, Huang Y, Yan S. INHBA upregulation correlates with poorer prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Manag Res.* 2018;10:1585-96. doi: [10.2147/CMAR.S160186](https://doi.org/10.2147/CMAR.S160186)
6. Zhong X, Pons M, Poirier C, Jiang Y, Liu J, Sandusky GE, et al. The systemic activin response to pancreatic cancer: implications for effective cancer cachexia therapy. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2019;10(5):1083-101. doi: [10.1002/jcsm.12461](https://doi.org/10.1002/jcsm.12461)
7. Gomez-Perez S, McKeever L, Sheean P. Tutorial: A Step-by-Step Guide (Version 2.0) for Measuring Abdominal Circumference and Skeletal Muscle From a Single Cross-Sectional Computed-Tomography Image Using the National Institutes of Health ImageJ. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2020;44(3):419-24. doi: [10.1002/jpen.1721](https://doi.org/10.1002/jpen.1721)
8. Paajanen J, Ilonen I, Lauri H, Järvinen T, Sutinen E, Ollila H, et al. Elevated Circulating Activin A Levels in Patients With Malignant Pleural Mesothelioma Are Related to Cancer Cachexia and Reduced Response to Platinum-based Chemotherapy. *Clin Lung Cancer.* 2020;21(3):e142-e150. doi: [10.1016/j.clcc.2019.10.013](https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.10.013)
9. Bauer J, Emon MAB, Staudacher JJ, Thomas AL, Zessner-Spitzenberg J, Mancinelli G, et al. Increased stiffness of the tumor microenvironment in colon cancer stimulates cancer associated fibroblast-mediated prometastatic activin A signaling. *Sci Rep.* 2020;10(1):50. doi: [10.1038/s41598-019-55687-6](https://doi.org/10.1038/s41598-019-55687-6)
10. Ries A, Schelch K, Falch D, Pany L, Hoda MA, Grusch M. Activin A: an emerging target for improving cancer treatment? *Expert Opin Ther Targets.* 2020;24(10):985-96. doi: [10.1080/14728222.2020.1799350](https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1799350)



Вивчення впливу концентрації біфоназолу на антимікотичну активність вагінальних супозиторіїв

Т. В. Мельник^{1b}A,C,D, Н. Л. Количева^{1b}*B,E,F

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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

Проаналізували стан сучасних можливостей фармакотерапії вульвовагінального кандидозу. Встановили, що створення м'яких лікарських форм для місцевого лікування інфекційних захворювань вульви та піхви на основі похідних азолу, які мають доведений широкий спектр антифунгального й антибактеріального ефекту, але ще не застосовані в засобах для вагінального шляху введення, сьогодні є актуальним завданням для фармацевтичної та медичної науки. Успішна реалізація цього проєкту дасть змогу запропонувати вітчизняній дерматології ефективні, комплаєнтні та доступні для широких верств населення України препарати для гінекологічної практики, створить реальну альтернативу імпортованим фармакотерапевтичним засобам.

Мета роботи – наукове обґрунтування концентрації біфоназолу в супозиторних композиціях для вагінального застосування.

Матеріали і методи. Вплив концентрації біфоназолу від 1 % до 15 % у м'яких лікарських формах для вагінального застосування дослідили, використавши модельні композиції на поліетиленоксидному носії, враховували розчинність активного інгредієнта. Як параметр оптимізації використали антигрибкову активність виготовлених експериментальних супозиторних композицій, що визначали методом дифузії в агар щодо грибів *Candida albicans* ATCC 885-653. Дисперсійний аналіз результатів показав значущий вплив концентрації біфоназолу на антимікотичну активність супозиторних композицій на модельній поліетиленоксидній основі.

Результати. Встановили, що збільшення концентрації активного фармацевтичного інгредієнта в супозиторних масах вище ніж 10 % не призводить до статистично значущого підвищення їхньої антимікотичної активності.

Висновки. У результаті дослідження протигрибкової дії супозиторних мас із біфоназолом на модельній поліетиленоксидній основі виявлено, що концентрація активного фармацевтичного інгредієнта статистично значущо впливає на ефективність м'якої лікарської форми. Встановлено, що 10 % концентрація біфоназолу, яка є еквівалентом 0,3 г біологічно активної речовини у вагінальних супозиторіях, забезпечує оптимальний рівень протигрибкової дії.

Ключові слова: біфоназол, м'які лікарські засоби, протигрибкова активність, математичне планування експерименту.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 48-51

Study of the effect of bifonazole concentration on the antifungal activity of vaginal suppositories

T. V. Mielnyk, N. L. Kolycheva

The analysis of the current state of pharmacotherapy for vulvovaginal candidiasis reveals that there is a contemporary need for the development of soft dosage forms for the local treatment of infectious diseases affecting the vulva and vagina. This should be based onazole derivatives that, despite possessing a well-established wide spectrum of antifungal and antibacterial effects, have not been utilized for vaginal administration in domestic formulations. The successful realization of this project would enable the field of domestic dermatology to provide effective, compliant, and affordable drugs for gynecological practice to the general population of Ukraine. Additionally, it would establish a viable alternative to imported pharmacotherapeutic agents.

Aim. The purpose of this work is the scientific substantiation of the concentration of bifonazole in suppository compositions for vaginal use.

Materials and methods. Research was conducted to investigate the influence of bifonazole concentration ranging from 1 % to 15 % in soft dosage forms for vaginal use. Model compositions were formulated on a polyethylene oxide carrier, considering its solubility. The antifungal activity of the experimental suppository compositions was chosen as the optimization parameter and assessed using the diffusion method in agar against *Candida albicans* ATCC 885-653. Variance analysis of the results revealed a significant impact of bifonazole concentration on the antimycotic activity of the suppository compositions based on the model polyethylene oxide.

Results. The research results show that increasing the concentration of the active pharmaceutical ingredient in suppository masses above 10 % does not lead to a statistically significant increase in their antimycotic activity.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/294647>

UDC 615.454.2:615.282.77.032:611.671].015.12
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.294647](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.294647)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):48-51

Keywords: bifonazole, soft drugs, antifungal agents, mathematical planning of the experiment.

*E-mail: nkolycheva68@gmail.com

Received: 04.11.2023 // Revised: 17.01.2024 // Accepted: 23.01.2024

Conclusions. As a result of the conducted study on the antifungal effect of suppository masses with bifonazole on a model polyethylene oxide basis, it was found that the concentration of the active pharmaceutical ingredient has a statistically significant effect on the effectiveness of the soft dosage form. It was established that a ten percent concentration of bifonazole, equivalent to 0.3 g of the biologically active substance in vaginal suppositories, provides the optimal level of their antifungal effect.

Keywords: bifonazole, soft drugs, antifungal agents, mathematical planning of the experiment.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):48-51

Вульвовагінальний кандидоз (ВВК) діагностують майже у 75 % жінок репродуктивного віку. Грибкова інфекція нерідко поєднується з хірургічною, урологічною, терапевтичною, гінекологічною патологією, і це не лише ускладнює діагностику, але й перешкоджає ефективному лікуванню основного захворювання [1,2].

У структурі інфекційних захворювань вульви та піхви ВВК становить до 45 %. Збудником ВВК є гриби роду *Candida*, який налічує близько 200 видів. Як сапрофіти вони мешкають на шкірних покривах і слизових оболонках здорових людей. Незважаючи на збереження провідної ролі в етіології кандидозу *C. albicans* (85–90 %), за останні 10 років удвічі збільшилась поширеність вагінального кандидозу, спричиненого *non-albicans* видами *Candida* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondi*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. pseudotropicalis*). Майже половина усіх випадків ВВК резистентна до звичайної протигрибкової терапії [3,4].

Незважаючи на достатню кількість публікацій, присвячених цьому питанню, лікування кандидозу є непростим завданням. Основний принцип терапії полягає у тому, щоб ефективно впливати на гриби, не допустити рецидивів захворювання і виключити негативну дію препаратів на організм пацієнта. Необхідними є лікування супутніх захворювань і ліквідація чинників ризику розвитку кандидозу. Слід проводити імунорекцію і за можливості використовувати місцеве лікування. Крім того, треба пам'ятати, що кандидоз здебільшого виникає в асоціації з іншими мікроорганізмами, тому визначати його слід як поліетіологічне захворювання. Відтак питання щодо пошуку раціональної терапії кандидозу зберігають актуальність [5].

У фармакотерапії вульвовагінального кандидозу використовують системні та місцеві протигрибкові засоби у відповідних лікарських формах.

Пероральне введення не завжди має необхідну терапевтичну дію антимікотиків. Це пов'язано з неможливістю створити високу концентрацію препарату в осередку ураження використанням малих доз прийому, необхідністю призначення великих дозувань і, як наслідок, проявом побічних реакцій організму людини в процесі терапії мікотичних уражень урогеніталій.

Місцеві лікарські форми мають ряд переваг над системними: простота застосування і дозування, створення високої концентрації діючої речовини безпосередньо в місці застосування лікарського засобу, мінімальна токсична дія на організм (особливо на печінку), оскільки препарат потрапляє у сферу застосування, оминаючи кровоносну систему [6,7].

Антимікотичних засобів місцевої дії зазвичай буває достатньо для лікування гострих форм захворювання.

Препаратами першого вибору в терапії вульвовагінального кандидозу є азоли.

Азоли (похідні імідазолу і тріязолу) – найбільш численна група синтетичних протигрибкових засобів, що мають переважно фунгістатичний ефект широкого спектра дії. Основний механізм дії азолів полягає в інгібуванні біосинтезу ергостеролу – основного компонента мембрани клітини гриба, що бере участь у підтримці її структурної цілісності [8,9].

Системне призначення препаратів групи азолів обмежене низкою побічних реакцій. До них належить кумуляція в організмі людини при тривалому застосуванні, а також ряд інших ускладнень, як-от нудота, головний біль, слабкість, фотофобія, гепатит, алопеція, артралгії, міалгії, парестезії, гіпертензія, тромбофлебіт, лейкопенія, розвиток отиту, блефариту. Зауважують також пригнічувальну дію щодо імунної системи, функції статевих, надниркових залоз [10,11].

Використання спеціалізованих інтравагінальних форм антимікотиків нині є найбільш затребуваним методом терапії вульвовагінального кандидозу, при цьому фахівці і пацієнти віддають перевагу вагінальним супозиторіям, оскільки вагінальні таблетки часто викликають подразнення і свербіж, а застосування вагінальних кремів є недостатньо комплаєнтним [12,13].

Втім, на практиці вибір вагінальних препаратів у формі супозиторіїв, що мають протигрибкову активність, досить обмежений через низку недоліків, властивих більшості препаратів: токсичність, вузький спектр антифунгальної активності, низьку біодоступність, високу частоту рецидивів, клінічно значущі лікарські небажані взаємодії або високу вартість. Слід врахувати, що вагінальні супозиторії на основі клотримазолу, міконазолу й омоконазолу, які використовують у вітчизняній клінічній практиці, мають імпорتنе походження. Але головною причиною необхідності пошуку нових альтернативних методів терапії є вироблення мікроорганізмами механізмів стійкості до препаратів, що широко використовують. За даними наукової літератури, стійкість *Candida spp.* до азольних препаратів сягає 10 %, що пов'язують з точковими мутаціями V4371 і N440K у гені ERG11 [14,15].

Усе це обґрунтовує доцільність розроблення м'яких лікарських форм для терапії кандидозного вульвовагініту на основі похідних азолу, які мають доведений широкий спектр антифунгального й антибактеріального ефекту, але ще не застосовані в засобах для вагінального шляху введення.

Одна з біологічно активних речовин із групи азолів – біфоназол (дифенілбензил імідазол), що є проти-

Таблиця 1. Матриця планування та результати визначення антимікотичної активності (мм) щодо *Candida albicans* ATCC 885-653 супозиторних мас на поліетиленоксидній основі з різним вмістом біфоназолу

Концентрація біфоназолу, % (фактор А)	Номери випробувань			Сума	Середнє
	1	2	3		
1,0	12	12	12	36	12,0
3,0	13	14	14	41	13,7
5,0	14	15	15	44	14,7
10,0	21	23	22	66	22,0
15,0	22	22	25	69	23,0
Сума				256	–

Таблиця 2. Дисперсійний аналіз результатів визначення зон затримки росту супозиторних композицій із різним вмістом біфоназолу щодо *Candida albicans* ATCC 885-653

Джерело мінливості	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	F _{вип.}	F _{табл.}
Концентрація біфоназолу в супозиторній масі	4	307,60	76,90	82,7	3,5
Помилка	10	9,33	0,93	–	–
Загальна сума	14	316,93	–	–	–

грибковою речовиною широкого спектра дії. Він має фунгістатичну дію щодо дерматофітів, дріжджових, пліснявих та інших грибів. Зазвичай пацієнти добре переносять біфоназол при зовнішньому застосуванні. В Україні зареєстрований у формі 1 % розчину, гелю та крему для терапії дерматомікозів і комбінованої мазі «Канеспор» для лікування оніхомікозів. Даних про вагінальне використання біфоназолу в доступній фаховій літературі не виявлено [16].

Відтак створення м'яких вагінальних лікарських засобів з біфоназолом на основі доступних вітчизняних технологій є актуальним для фармацевтичної і медичної науки. Успішна реалізація цього проєкту дасть змогу запропонувати вітчизняній гінекології ефективні, комплантні та доступні для широких верств населення України препарати для лікування вульвовагінального кандидозу і створить реальну альтернативу імпортом фармацевтичним засобам.

Початковою стадією фармацевтичної розробки вагінальних супозиторіїв з протигрибковою дією є визначення оптимальної кількості біологічно активної речовини у лікарській формі [17].

Мета роботи

Наукове обґрунтування концентрації біфоназолу в супозиторних композиціях для вагінального застосування.

Матеріали і методи дослідження

Вплив концентрації біфоназолу від 1 % до 15 % у м'яких лікарських формах для вагінального застосування дослідили, використавши модельні композиції на поліетиленоксидному носії, враховували розчинність активного інгредієнта [18]. Згідно з даними наукової літератури

про фармакотехнологічні особливості активного фармацевтичного інгредієнта та його дозування у лікарських формах, вивчали супозиторні маси з вмістом біфоназолу від 1 % до 15 %.

Для об'єктивізації результатів і скорочення термінів здійснення досліджень наукове обґрунтування концентрації біфоназолу в супозиторних композиціях проводили за планом однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями [19].

Як параметр оптимізації використали антигрибкову активність виготовлених експериментальних супозиторних композицій, що визначили методом дифузії в агар [20] щодо грибів *Candida albicans* ATCC 885-653.

Результати

Результати протигрибкової дії виготовлених експериментальних супозиторних мас, що містять різні кількості біфоназолу, та матрицю планування досліджень наведено у таблиці 1.

Дисперсійний аналіз результатів наведено в таблиці 2.

Обговорення

Дисперсійний аналіз результатів показав значущий вплив концентрації біфоназолу на антимікотичну активність супозиторних композицій на модельній поліетиленоксидній основі ($F_{\text{вип.}} > F_{\text{табл.}}$).

У результаті перевірки відмінностей середніх результатів досліджуваного чинника з використанням множинного рангового критерію Дункана [19] одержали такий ряд переваг: 5 (4) > 3 (2) > 1 (2).

Він є еквівалентним для таких концентрацій біфоназолу у експериментальних лікарських формах: 15 % (10 %) > 5 % (3 %) > 1 % (3 %).

Результати досліджень показали, що збільшення концентрації активного фармацевтичного інгредієнта у супозиторних масах вище ніж 10 % не призводить до статистично значущого підвищення їхньої антимікотичної активності.

Дані, що наведено, підтверджують доцільність уведення до складу вагінальних супозиторіїв 0,3 г біфоназолу, враховуючи середню масу лікарської форми.

Висновки

1. У результаті дослідження антимікотичної активності супозиторних мас із біфоназолом на модельній поліетиленоксидній основі виявлено, що концентрація активного фармацевтичного інгредієнта статистично значущо впливає на ефективність м'якої лікарської форми.

2. Встановлено, що 10 % концентрація біфоназолу, яка є еквівалентом 0,3 г біологічно активної речовини у вагінальних супозиторіях, забезпечує оптимальний рівень протигрибкової дії.

Перспективи подальших наукових досліджень. Результати роботи свідчать про необхідність наступних біофармацевтичних досліджень вагінальних супозиторіїв із біфоназолом 0,3 г.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету «Дослідження технологічних, фармакологічних, фармакогностичних, соціально-економічних та фармакотерапевтичних аспектів створення та використання лікарських засобів із активними фармацевтичними інгредієнтами на основі природної та синтетичної сировини різних фармакологічних груп та розробка заходів щодо підвищення фармацевтичної допомоги в умовах трансформації української системи охорони здоров'я і фармацевтичної освіти», держреєстрація № 0124U001379 (2024–2028).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Мельник Т. В., аспірант каф. технології ліків, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0003-5999-8303

Колічева Н. Л., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-0853-271X

Information about the authors:

Mielnyk T. V., PhD-student of the Department of Medicines Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kolycheva N. L., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Fakhim H, Vaezi A, Javidnia J, Nasri E, Mahdi D, Diba K, et al. *Candida africana* vulvovaginitis: Prevalence and geographical distribution. *J Mycol Med.* 2020;30(3):100966. doi: [10.1016/j.mycmed.2020.100966](https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.100966)
- Yano J, Sobel JD, Nyirjesy P, Sobel R, Williams VL, Yu Q, et al. Current patient perspectives of vulvovaginal candidiasis: incidence, symptoms, management and post-treatment outcomes. *BMC Womens Health.* 2019;19(1):48. doi: [10.1186/s12905-019-0748-8](https://doi.org/10.1186/s12905-019-0748-8)
- Bitew A, Abebaw Y. Vulvovaginal candidiasis: species distribution of *Candida* and their antifungal susceptibility pattern. *BMC Womens Health.* 2018;18(1):94. doi: [10.1186/s12905-018-0607-z](https://doi.org/10.1186/s12905-018-0607-z)
- de Cássia Orlandi Sardi J, Silva DR, Anibal PC, de Campos Baldin JJ, Ramalho SR, Rosalen PL, et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology and risk factors, pathogenesis, resistance, and new therapeutic options. *Curr Fungal Infect Rep.* 2021;15(1):32-40. doi: [http://dx.doi.org/10.1007/s12281-021-00415-9](https://doi.org/10.1007/s12281-021-00415-9)
- Karrer S. Diseases of the female genitalia. In: Braun-Falco's Dermatology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2021. p. 1-19. Available from: [10.1007/978-3-662-58713-3_78-1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-58713-3_78-1)
- Lirio J, Giraldo PC, Amaral RL, Sarmiento AC, Costa AP, Gonçalves AK. Antifungal (oral and vaginal) therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review protocol. *BMJ Open.* 2019;9(5):e027489. doi: [10.1136/bmjopen-2018-027489](https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027489)
- Ré ACS, Martins JF, Cunha-Filho M, Gelfuso GM, Aires CP, Gratieri T. New perspectives on the topical management of recurrent candidiasis. *Drug Deliv Transl Res.* 2021;11(4):1568-85. doi: [10.1007/s13346-021-00901-0](https://doi.org/10.1007/s13346-021-00901-0)
- Shukla PK, Singh P, Yadav RK, Pandey S, Bhunia SS. Past, present, and future of antifungal drug development. In: Topics in Medicinal Chemistry. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 125-67. Available from: [10.1007/7355_2016_4](https://doi.org/10.1007/7355_2016_4)
- Hay RJ. Antifungal drugs. In: European Handbook of Dermatological Treatments. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2003. p. 700-10. Available from: [10.1007/978-3-662-07131-1_122](https://doi.org/10.1007/978-3-662-07131-1_122)
- Shafiei M, Peyton L, Hashemzadeh M, Foroumadi A. History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. *Bioorg Chem.* 2020;104:104240. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.104240](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104240)
- Lewis RE, Wiederhold NP. Systemic Antifungal Agents. In: Diagnosis and Treatment of Fungal Infections. Cham: Springer International Publishing; 2023. p. 125-47. Available from: [10.1007/978-3-031-35803-6_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-35803-6_8)
- Liu Y, Li M, Yi H, Song D, Lou Y, Fan S, et al. Efficacy and safety of Fufang Furong Effervescent Suppository for the treatment of mixed vaginitis: a randomized, multicenter, and non-inferiority study. *Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine.* 2023 June; 7: Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667142523000118>
- Sobel JD, Sobel R. Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species. *Expert Opin Pharmacother.* 2018;19(9):971-7. doi: [10.1080/14656566.2018.1476490](https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1476490)
- Eldesouky HE, Mayhoub A, Hazbun TR, Seleem MN. Reversal of Azole Resistance in *Candida albicans* by Sulfa Antibacterial Drugs. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(3):e00701-17. doi: [10.1128/AAC.00701-17](https://doi.org/10.1128/AAC.00701-17)
- Assress HA, Selvarajan R, Nyoni H, Mamba BB, Msagati TA. Antifungal azoles and azole resistance in the environment: current status and future perspectives – a review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 2021;20(4):1011-41. doi: [http://dx.doi.org/10.1007/s11157-021-09594-w](https://doi.org/10.1007/s11157-021-09594-w)
- Krishna AV, Gowda VD, Karki R. Formulation and Evaluation of Nanosponges Loaded Bifonazole for Fungal Infection. *Anti-Infective Agents.* 2020;19(1):64-75. doi: [10.2174/2211352518999200711164437](https://doi.org/10.2174/2211352518999200711164437)
- Kumar A, Kumar S. Intra vaginal drug delivery system (novel drug delivery system). *Int J Res Appl Sci Biotechnol.* 2020;7(6):234-41. doi: [http://dx.doi.org/10.31033/ijrasb.7.6.33](https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.6.33)
- Kobal IM, Hladyshev VV. Vychennia farmakotekhnolohichnykh kharakterystyk bifonazolu [Study of pharmacotechnological characteristics of bifonazole]. In: Naukovo-tekhnichnyi prohres i optymizatsiia tekhnolo-hichnykh protsesiv stvorennia likarskykh preparativ. Proceedings of the 6th scientific-practical conference Ternopil: TDMU "Ukrmedknyha"; 2016. p. 115-6. Ukrainian. Available from: <http://dSPACE.zsmu.edu.ua/handle/123456789/4994>
- Hroshovyi TA, Martseniuk VP, Kucherenko LI, Vronska LP. Matematychno planuvannya eksperymentu pry provedenni naukovykh doslidzhen v farmatsii [Mathematical planning of an experiment during scientific research in pharmacy]. Ternopil, Ukraine: TDMU; 2008.
- Pashayan MM, Hovhannisyanyan HG. Development of bifunctional vaginal suppositories by joint use terconazole and probiotic for treatment and prophylaxis of vulvovaginal candidiasis. *Drug Dev Ind Pharm.* 2021;47(9):1424-31. doi: [10.1080/03639045.2021.2001485](https://doi.org/10.1080/03639045.2021.2001485)



Особливості клінічного перебігу хронічного панкреатиту у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень

О. С. Хухліна^{ID A,D,F}, І. В. Дудка^{ID *B,C,D}, Т. В. Дудка^{ID B,C,E}

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, 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 – встановити інтенсивність маніфестації клінічних синдромів за коморбідного перебігу хронічного панкреатиту (ХП) у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) порівняно з ізольованим перебігом ХП, оцінити інтенсивність синдрому взаємообтяження.

Матеріали і методи. Здійснили проспективне когортне дослідження з аналізом медичних карт стаціонарних хворих 212 пацієнтів. Перша група – 96 осіб з ізольованим перебігом ХП, друга група – 116 хворих на ХП із коморбідним ХОЗЛ (група Е). У дослідженні вивчали дані щодо суб'єктивних проявів больового синдрому ХП, ступеня зовнішньосекреторної недостатності підшлункової залози (ПЗ), клінічного аналізу крові, біохімічного дослідження вмісту маркерів синдрому, відхилення ферментів ПЗ у кров, вмісту еластази-1 у калі, ультрасонографічного дослідження органів черевної порожнини.

Результати. Прояви абдомінально-больового синдрому спостерігали у хворих 2 групи у 1,2 раза частіше, ніж у хворих 1 групи ($p < 0,05$). Більшу частоту болю в ПЗ з іррадіацією в праву підреберну ділянку визначили у хворих 2 групи, відповідний показник 1 групи перевищено в 1,9 раза ($p < 0,05$), а також симптому оперізувального болю з іррадіацією в спину (у 2,1 раза, $p < 0,05$). Частота диспепсичного синдрому дещо вища у хворих 2 групи (в 1,3 раза, $p > 0,05$). Частота астено-вегетативного синдрому істотна в обох групах дослідження, однак у хворих 2 групи вона перевищила показник 1 групи (в 1,7 раза, $p < 0,05$). Аналіз параметрів ультрасонографії ПЗ у хворих виявив характерні ультрасонографічні ознаки ХП. Аналіз показників функціонального стану ПЗ у фазі загострення вказує на синдром гіперферментемії: активність α -амілази у пацієнтів 1 і 2 груп значно вища порівняно з групою контролю – в 1,8 і 2,6 раза відповідно ($p < 0,05$).

Висновки. ХП при коморбідності з ХОЗЛ характеризується вірогідно нижчою частотою нападоподібного абдомінально-больового синдрому, але асоційований з вищою частотою постійного ниючого болю в проекції ПЗ, максимальною інтенсивністю запалення, гіперферментемією, зниженням активності еластази-1 калу, а також більшою інтенсивністю астено-вегетативного, больового, диспепсичного, інтоксикаційного синдромів, зовнішньосекреторної дисфункції ПЗ, більш вираженими змінами сонографічної структури ПЗ порівняно з такими при ізольованому перебігу ХП.

Ключові слова: хронічний панкреатит, хронічне обструктивне захворювання легень, больовий синдром, зовнішньосекреторна дисфункція.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 52-59

Features of the clinical course of chronic pancreatitis in patients with chronic obstructive pulmonary disease

O. S. Khukhlina, I. V. Dudka, T. V. Dudka

Aim. The purpose of the study is to determine the intensity of the manifestation of clinical syndromes in the comorbid course of chronic pancreatitis (CP) in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in comparison with the isolated course of CP and to assess the intensity of the mutual burden syndrome.

Material and methods. A prospective cohort study was conducted, analyzing the medical records of 212 inpatients. The first group comprised 96 individuals with an isolated course of chronic pancreatitis (CP), while the second group included 116 patients with CP and comorbid chronic obstructive pulmonary disease (COPD), categorized as Group E. The study focused on subjective manifestations of pain syndrome in CP, the extent of exocrine pancreatic insufficiency, clinical blood analysis, biochemical research regarding the content of markers indicating pancreatic enzyme deviation in the blood, and the level of elastase-1 in feces. Additionally, ultrasonographic examination of the organs in the abdominal cavity was performed.

Results. Patients in group 2 exhibited manifestations of abdominal pain syndrome 1.2 times more frequently than those in group 1 ($p < 0.05$). The frequency of pain in the pancreas radiating to the right subcostal region was 1.9 times higher in group 2 compared to

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/295344>

UDC 616.37-002.2-06:616.24-007.272]-036.1-07
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.295344

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):52-59

Keywords: chronic pancreatitis, chronic obstructive pulmonary disease, pain syndrome, exocrine dysfunction.

*E-mail: dudka.inna@bsmu.edu.ua

Received: 28.12.2023 // Revised: 08.01.2024 // Accepted: 16.01.2024

group 1 ($p < 0.05$), along with a 2.1 times increase in the symptom of girdled pain radiating to the back ($p < 0.05$). Although the frequency of dyspeptic syndrome was slightly higher in group 2 (1.3 times, $p > 0.05$), astheno-vegetative syndrome was significantly more pronounced, exceeding the frequency in group 1 by 1.7 times ($p < 0.05$).

Ultrasonography parameters of the pancreas in both groups revealed characteristic signs of chronic pancreatitis (CP). The analysis of pancreatic functional state indicators during exacerbation indicated hyperenzymemia syndrome, with α -amylase activity significantly higher in patients of both groups compared to the control group – by 1.8 and 2.6 times, respectively ($p < 0.05$).

Conclusions. CP with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is characterized by a significantly lower frequency of paroxysmal abdominal pain syndrome but a higher frequency of constant aching pain in the pancreas area. Additionally, it is associated with the maximum intensity of inflammation, hyperfermentemia, a decrease in the activity of elastase-1 in feces, and a higher intensity of astheno-vegetative, painful, dyspepsia, intoxication syndromes. Moreover, there is a more pronounced exocrine dysfunction of the pancreas and more significant changes in the sonographic structure of the pancreas compared to cases with the isolated course of CP.

Keywords: chronic pancreatitis, chronic obstructive pulmonary disease, pain syndrome, exocrine dysfunction.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):52-59

Проблема коморбідності хронічного панкреатиту (ХП) та хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) полягає в їхній високій поширеності та зростанні частоти поєданого перебігу, що, за даними різних джерел, становить від 12 % до 20 % [1,2,3,4,5,6]. Це обґрунтовує доцільність пошуку спільних патогенетичних ланок взаємного обтяження та прогресування цієї коморбідності, удосконалення діагностики, підвищення ефективності лікування й профілактики.

Хронічний панкреатит – хронічне запальне захворювання підшлункової залози (ПЗ), що характеризується незворотними морфологічними змінами та втратою функції, що прогресує [7,8,9,10,11,12]. Це захворювання призводить до руйнування тканини ПЗ внаслідок запалення та розвитку фіброзної тканини [13,14,15]. Частота захворювання на ХП у європейських країнах коливається від 5 до 10 випадків на 100 000 населення [16,17,18]. При медіані виживаності 20 років розрахункова поширеність захворювання становить 120 випадків [17]. Існувала думка, що має бути пошкоджено понад 90 % тканини ПЗ, перш ніж виникне екзокринна недостатність ПЗ. Однак оригінальні дослідження останніх років не підтверджують це положення [11,19,20]. Мальдигестія та мальабсорбція, а згодом мальнутриція виникають значно раніше – вже при пошкодженні та фіброзному заміщенні 50–70 % тканини ПЗ [21]. Передчасний остеопороз / остеопенія вражає дві третини пацієнтів як наслідок недостатнього засвоєння кальцію та вітаміну D, низької фізичної активності, низького впливу сонячного світла, інтенсивного куріння тютюну, а також наявності коморбідних захворювань, що супроводжує хронічне запалення низького ступеня різної локалізації [22]. Пізніше при рецидивному ХП виникає втрата острівцевих клітин ПЗ [1,6,13]. У пацієнтів може розвинути цукровий діабет типу 3с (панкреатогенний), який ускладнюється одночасним зниженням секреції глюкагону [10,13]. За таких умов усі коморбідні захворювання неухильно прогресують і декомпенсуються швидше, ніж при ізольованому перебігу [11,21,23].

Захворюваність на ХОЗЛ у популяції зростає в геометричній прогресії, зокрема, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, ХОЗЛ нині є четвертою провідною причиною смерті у світі [1].

Особливості клінічного перебігу ХП із коморбідним ХОЗЛ досліджено недостатньо, лише на обмежених контингентах пацієнтів, встановлено лише окремі механізми взаємообтяження [22,23,24,25,26]. Це обґрунтовує актуальність теми дослідження.

Отже, робоча гіпотеза дослідження полягає в доведенні або спростуванні ймовірного взаємного впливу ХОЗЛ і клінічного перебігу ХП.

Мета роботи

Встановити інтенсивність маніфестації клінічних синдромів за коморбідного перебігу ХП у хворих на ХОЗЛ порівняно з ізольованим перебігом ХП, оцінити інтенсивність синдрому взаємообтяження.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили проспективне когортне дослідження з аналізом медичних карт стаціонарних хворих 212 пацієнтів. Першу групу хворих становили 96 осіб з ізольованим перебігом ХП, змішаної етіології у фазі загострення середньої тяжкості (1 група); другу групу (2 групу) – 116 хворих на ХП із коморбідним ХОЗЛ (група Е). Середній вік пацієнтів становив $51,30 \pm 3,14$ року. До групи порівняння залучили 30 практично здорових осіб (ПЗО).

Діагноз ХП встановлювали згідно з уніфікованим клінічним протоколом, що затверджений наказом МОЗ України «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при хронічному панкреатиті» від 10.09.2014 № 638 на підставі класичних клінічних, ультрасонографічних, біохімічних методів, та також враховуючи наказ МОЗ України «Про затвердження Уніфікованого клінічного протоколу первинної та спеціалізованої медичної допомоги «Хронічний панкреатит»» від 04.07.2023 № 1204 [7,8].

Діагностику та лікування ХОЗЛ здійснили відповідно до клінічних настанов (наказ МОЗ України від 27.06.2013 № 555, враховуючи Адаптовану клінічну настанову, засновану на доказах, «Хронічне обструктивне захворювання легень», 2020). Належність до груп А, В, Е хворих на ХОЗЛ оцінювали за шкалою оцінювання тяжкості ХОЗЛ за АВЕ (GOLD 2023) [24].

Проаналізували частоту виникнення клінічних синдромів, суб'єктивних та об'єктивних симптомів, ступеня тяжкості загострення ХП за інтенсивністю маніфестації клінічних проявів больового синдрому. Інтенсивність суб'єктивних проявів больового синдрому ХП оцінювали за допомогою напівкількісної шкали: 0 балів – проявів немає; 1 бал – мінімальні; 2 бали – помірні; 3 бали – прояви виражені або дуже виражені. За допомогою цієї шкали обчислювали середній ступінь тяжкості (ССТ) клінічних проявів ХП [7] за формулою (1):

$$\text{ССТ ХП} = a + 2b + 3c / a + b + c + d, \quad (1)$$

де a – кількість хворих з інтенсивністю симптомів 1 бал; b – кількість пацієнтів з інтенсивністю симптомів 2 бали; c – кількість хворих з інтенсивністю симптомів 3 бали; d – кількість обстежених без симптомів.

Ступінь зовнішньосекреторної недостатності ПЗ вивчали за даними опитувальника Pancreatic Exocrine Insufficiency Questionnaire (PEI-Q) (2018) [19].

У дослідженні також використовували дані клінічного аналізу крові, біохімічного дослідження вмісту маркерів синдрому відхилення ферментів ПЗ у крові (за активністю альфа-амілази крові) за загальноприйнятими методиками, вмісту еластази-1 у калі методом ІФА на імуноферментному аналізаторі «Labsystems Multiskan MS» (Нідерланди).

Ультрасонографічне (УСГ) дослідження органів черевної порожнини виконано 100 % хворих. Комплексне УСГ-дослідження здійснили на ультразвуковому сканері «AU-4 Idea» (Biomedica, Італія) конвексним датчиком із частотою 3,5 МГц. Обстеження передбачало УСГ органів черевної порожнини в В-режимі реальному масштабі часу з УСГ-гістографією [12]. Проводили позиційну УСГ ПЗ пацієнта в положенні лежачи на спині. Використали прийом затримки дихання у фазі глибокого вдиху. Здійснили поліпроєкційне сканування у поздовжній, поперечній і косій площинах з наступним оцінюванням розмірів органа (розмір голівки та тіла ПЗ), характеру контуру ПЗ, ехогенності тканини, ступеня неоднорідності паренхіми ПЗ, наявності розширення головної протоки ПЗ, наявності у паренхімі кальцифікатів і болючості при натисканні датчиком УСГ у зоні проєкції ПЗ. Для аналізу гістограм використали два показники. Показник однорідності N обчислювали за формулою (2):

$$N = M / T \times 100 \%, \quad (2)$$

де N – показник однорідності тканини ПЗ, M – кількість елементів тіньового компонента, який виявляли найчастіше у зазначеній ділянці; T – загальна кількість елементів у зазначеній ділянці.

Гістографічний коефіцієнт ПЗ обчислювали за формулою (3):

$$\text{Kgst} = [N / P \times L] \times 10\,000, \quad (3)$$

де Kgst – гістографічний коефіцієнт; N – показник однорідності тканини ПЗ; P – максимальний рівень сі-

рості в цій гістограмі; L – рівень сірості, який визначали найчастіше у ділянці.

Статистичний аналіз результатів виконали відповідно до виду дослідження й типів числових даних, що отримані. Нормальність розподілу перевіряли за допомогою тестів Лілієфорса, Шапіро–Вілка та методом прямого візуального оцінювання гістограм розподілу власних значень. Кількісні показники, що мали нормальний розподіл, наведено як середнє арифметичне (M) \pm стандартне відхилення (S). Дискретні величини – як абсолютні та відносні частоти (відсоток спостережень до загальної кількості обстежених). Для порівняння даних, що мали нормальний характер розподілу, використали параметричні тести з оцінюванням t -критерію Стьюдента або F -критерію Фішера. У разі невідповідності нормальному закону розподілу використовували непараметричні методи: медіанний тест, розрахунок рангового U -критерію Манна–Вітні, для множинного порівняння – T -критерій Вілкоксона (якщо досліджували залежні групи). Для статистичного та графічного аналізу отриманих результатів використали програмні пакети Statistica for Windows версії 8.0 (Stat Soft Inc., США), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, США).

Результати

Аналіз суб'єктивних симптомів запалення ПЗ, що виникали в обстежених (частота симптомів наведена в *таблиці 1*), показав: прояви абдомінально-больового синдрому спостерігали у хворих 2 групи у 1,2 раза частіше, ніж у хворих 1 групи ($p < 0,05$). Провідним симптомом цього синдрому у хворих 1 групи був нападopodobний біль у проєкції ПЗ, що виникав у 3,5 раза частіше у пацієнтів 1 групи (*табл. 1*). Постійний больовий синдром у проєкції ПЗ переважав у хворих 2 групи і перевищував за частотою показник у 1 групі у 4,6 раза ($p < 0,05$).

Максимальна інтенсивність болю зареєстрована у хворих 1 групи, а у пацієнтів 2 групи частота виникнення болю значної інтенсивності вдвічі нижча ($p < 0,05$). У пацієнтів 2 групи переважав ниючий біль у проєкції ПЗ слабкої інтенсивності (у 2,5 раза частіше, ніж у 1 групі, $p < 0,05$). Більшості пацієнтів 1 групи притаманний біль у лівій підреберній ділянці, який визначали у 2,8 раза частіше, ніж у 2 групі ($p < 0,05$). Вищу частоту болю в ПЗ із іррадіацією в праву підреберну ділянку спостерігали у хворих 2 групи, яка перевищувала відповідний показник у 1 групі в 1,9 раза ($p < 0,05$), а також симптом оперізувального болю з іррадіацією в спину (у 2,1 раза, $p < 0,05$) (*табл. 1*).

Частота диспепсичного синдрому дещо вища у хворих 2 групи (у 1,3 раза, $p > 0,05$) (*табл. 1*). Зокрема, переважна більшість хворих на ХП 2 групи визначали відчуття переповнення після вживання звичайної кількості їжі; цей показник в 1,4 раза перевищував відповідний параметр у хворих 1 групи ($p < 0,05$). Відрижку після вживання їжі спостерігали частіше у хворих 2 групи – у 1,4 раза порівняно з 1 групою ($p < 0,05$). Симптом постпрандіальної нудоти та блювання також переважав за частотою

Таблиця 1. Частота суб'єктивних симптомів у хворих на хронічний панкреатит залежно від наявності коморбідного ХОЗЛ, n (%)

Клінічний симптом	Групи обстежених хворих	
	1 група, n = 96	2 група, n = 116
Абдомінально-больовий синдром	82 (85,4)	114 (98,3)
Біль у проекції ПЗ нападоподібний	65 (67,7)	22 (19,0)*
Біль у проекції ПЗ постійний	17 (17,7)	92 (79,3)*
Біль у правій підреберній ділянці	25 (30,5)	65 (56,0)*
Біль у лівій підреберній ділянці	62 (64,6)	27 (23,3)*
Біль у проекції ПЗ оперізувальний (з іррадіацією в спину)	9 (10,9)	24 (21,1)*
Біль у проекції ПЗ інтенсивний	61 (75,6)	43 (37,7)*
Біль у проекції ПЗ ниючий (слабкої інтенсивності)	21 (25,6)	71 (62,3)*
Диспепсичний синдром	76 (79,2)	114 (100,0)
Відчуття переповнення після їди	64 (66,7)	109 (94,0)*
Відрижка	48 (50,0)	83 (71,6)*
Нудота	35 (36,5)	77 (67,5)*
Блювання	16 (16,7)	35 (30,2)
Здуття живота	68 (70,8)	112 (96,6)
Метеоризм	62 (64,6)	105 (90,5)*
Пронеси, неоформлені випорожнення	49 (51,0)	98 (84,5)*
Схильність до закрєпів	13 (13,5)	24 (20,7)
Астено-вегетативний синдром	45 (46,9)	91 (78,4)*
Сухість у роті	55 (57,3)	110 (94,8)*
Апетит підвищений	6 (6,3)	15 (12,9)
Зниження апетиту	35 (36,5)	74 (63,8)*

*: відмінності вірогідні порівняно з 1 групою хворих ($p < 0,05$)

у хворих 2 групи – в 1,9 раза ($p < 0,05$) порівняно з 1 групою. Симптом здуття живота, метеоризм реєстрували переважно у пацієнтів 2 групи; його частота перевищила показник у 1 групі у 1,4 раза ($p < 0,05$). На наявність проносів, поліфекалії та/або наявність частих неоформлених випорожнень скаржилась максимальна кількість хворих 2 групи; це перевищувало частоту діареї у хворих 1 групи в 1,6 раза ($p < 0,05$). Разом із тим, у хворих 2 групи схильність до закрєпів також більша, ніж у пацієнтів 1 групи (в 1,5 раза, $p < 0,05$).

Частота астено-вегетативного синдрому істотна в обох групах порівняння, однак у хворих 2 групи вона в 1,7 раза вища порівняно з 1 групою ($p < 0,05$). Прояви синдрому пов'язані з ендогенною інтоксикацією, що наростає, та синдромом гіперферментемії під час загострення ХП із суттєвим вегетативним дисбалансом і синдромом хронічної втоми.

Серед інших симптомів визначили сухість у роті. У хворих 2 групи цей симптом реєстрували в 1,6 раза частіше, ніж у пацієнтів 1 групи ($p < 0,05$). На нашу думку, це пов'язано з проявами вегетативного дисбалансу в цих хворих, проявами диспепсії, а також порушенням толерантності до вуглеводів.

У більшості хворих на ХП визначили розлади апетиту. Зокрема, серед пацієнтів із ХП 2 групи на зниження апетиту скаржилось у 1,8 раза більше обстежених, ніж у 1 групі ($p < 0,05$). Це пов'язано і з наявністю запальної інтоксикації внаслідок поєданого перебігу ХОЗЛ, і з проявами диспепсії. Зазначимо, що у 2 групі чимало хворих мали підвищений апетит; їхня кількість перевищила таку в 1 групі в 2,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 1).

Здійснили порівняльну характеристику інтенсивності основних клінічних синдромів ХП у балах. Так, прояви інтоксикаційного синдрому, за даними оцінювання загальної слабкості, максимальні у 2 групі хворих (перевищували показник у 1 групі в 1,2 раза, $p < 0,05$) (табл. 2). Максимальне зниження розумової та фізичної працездатності також визначили у хворих 2 групи, яке було вищим від показника у 1 групі в 1,2 раза ($p < 0,05$). Прояви диспепсичного синдрому (сухість у роті, нудота, здуття живота) максимальні у хворих 2 групи, перевищували показник 1 групи у межах 1,5–1,8 раза ($p < 0,05$). Клінічні прояви абдомінально-больового синдрому (у проекції ПЗ, правій і лівій підреберних ділянках) максимальної інтенсивності спостерігали у хворих 1 групи; відповідний показник 2 групи перевищено в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Характеристика інтенсивності клінічних симптомів хронічного панкреатиту (у балах) залежно від наявності коморбідного ХОЗЛ, $M \pm m$

Клінічний симптом	1 група, n = 96	2 група, n = 116
Загальна слабкість (астенія)	2,30 ± 0,05	2,80 ± 0,03*
Зниження працездатності (фізична, розумова)	2,40 ± 0,06	2,80 ± 0,05*
Сухість у роті	1,80 ± 0,03	2,70 ± 0,04*
Нудота	1,40 ± 0,05	2,50 ± 0,03*
Здуття живота	1,80 ± 0,07	2,80 ± 0,05*
Біль у проекції ПЗ	2,70 ± 0,04	2,40 ± 0,03*
Пронос	1,80 ± 0,05	2,50 ± 0,04*

*: відмінності вірогідні порівняно з 1 групою хворих ($p < 0,05$).

Таблиця 3. Результати ультразвукографічного дослідження підшлункової залози у хворих на хронічний панкреатит залежно від наявності ХОЗЛ, $M \pm m$

Показник, одиниці вимірювання	ПЗО, n = 30	1 група, n = 96	2 група, n = 116
Розмір голівки ПЗ, мм	22,30 ± 0,01	31,10 ± 0,10*	36,10 ± 0,07*/**
Розмір тіла ПЗ, мм	12,50 ± 0,01	17,30 ± 0,11*	26,60 ± 0,12*/**
Розмір хвоста ПЗ, мм	15,40 ± 0,02	29,70 ± 0,05*	27,50 ± 0,08 */**
Д. вірсунгової протоки	1,700 ± 0,001	3,300 ± 0,001*	4,100 ± 0,001*/**
L	16,2 ± 0,3	18,7 ± 0,3*	26,2 ± 0,3*/**
N	15,30 ± 0,10	11,60 ± 0,06 *	3,20 ± 0,01*/**
K	122,5 ± 14,7	102,5 ± 8,7*	35,2 ± 4,7*/**

*: відмінності вірогідні порівняно з ПЗО ($p < 0,05$); **: відмінності вірогідні порівняно з хворими 1 групи ($p < 0,05$).

Інтенсивність діарейного синдрому під час загострення ХП у 2 групі вища від показника 1 групи в 1,4 раза ($p < 0,05$) (табл. 2).

Аналіз параметрів УСГ ПЗ у хворих показав характерні УСГ-ознаки ХП: зміни розмірів ПЗ, нерівний контур, неоднорідну ехоструктуру, посилення ехогенності, розширення головної панкреатичної протоки, кальцифікацію ПЗ, болочість при натисканні датчиком УСГ у проекції ПЗ. У хворих 1 групи розміри голівки ПЗ в 1,4 раза перевищили відповідний показник ПЗО ($p < 0,05$). Розміри голівки ПЗ у хворих 2 групи вірогідно збільшені в 1,6 раза ($p < 0,05$); різниця від параметрів 1 групи спостереження достовірна ($p < 0,05$) (табл. 3). У хворих обох груп вертикальний розмір тіла ПЗ перевищив показник у ПЗО в 1,4 та 2,2 раза відповідно ($p < 0,05$), виявлена також вірогідна міжгрупова різниця ($p < 0,05$).

Розмір хвоста ПЗ у хворих 1, 2 груп також вірогідно перевищив норму в 1,9 і 1,8 раза ($p < 0,05$) відповідно з наявністю вірогідної різниці між групами ($p < 0,05$) (табл. 3). Діаметр вірсунгової протоки у хворих 1, 2 груп достовірно збільшений – в 1,9 і 2,4 раза відповідно ($p < 0,05$); різниця між групами вірогідна ($p < 0,05$) (табл. 3). Неоднорідність структури, мозаїчне підвищення та пониження ехогенності ПЗ спостерігали у хворих усіх груп дослідження ($p > 0,05$). Неоднорідна ехоструктура ПЗ формується внаслідок чергування гіпоехогенних (ділянки запалення та інфільтрації) та гіперехогенних

(ділянки фіброзу та формування кальцифікатів, що мають вигляд гіперехогенних осередків, часто з акустичною тінню) ділянок і фрагментів нормальної паренхіми ПЗ середньої ехогенності. У результаті вивчення змін ехогенності тканини ПЗ встановили, що у хворих 2 групи найчастіше виявляли гетерогенне посилення ехогенності ПЗ внаслідок наявності гіпоехогенних (ділянки запалення та інфільтрації) та гіперехогенних (осередки фіброзу та кальцифікації) ділянок на тлі нормальної паренхіми ПЗ середньої ехогенності.

У хворих 1 групи переважало гетерогенне зниження ехогенності паренхіми ПЗ. У хворих 2 групи визначили і гетерогенне посилення ехогенності ПЗ, зумовлене заміщенням паренхіми ПЗ сполучною та жировою тканиною, і гетерогенне зниження ехогенності паренхіми ПЗ внаслідок накладання гіпоехогенних зон запального набряку на змінену ехогенну структуру ПЗ, що погіршує чіткість УСГ-картини.

Більшу кількість ділянок кальцифікації ПЗ зареєстровано у хворих 2 групи ($n = 38, 32,7\%$) порівняно показником 1 групи ($n = 24, 25,0\%$; $p < 0,05$); псевдокісти ПЗ частіше визначали у хворих 2 групи (у 36 (30,1 %) випадках порівняно з 9 (9,4 %) у 1 групі, $p < 0,05$).

Результати ультразвукографічної гістографії голівки ПЗ показали, що параметри L, N, K у хворих 1 групи порівняно з ПЗО знижені в 1,2 раза (вказує на набряк ПЗ), у 1,3 та 1,2 раза ($p < 0,05$) відповідно. У хворих 2 групи

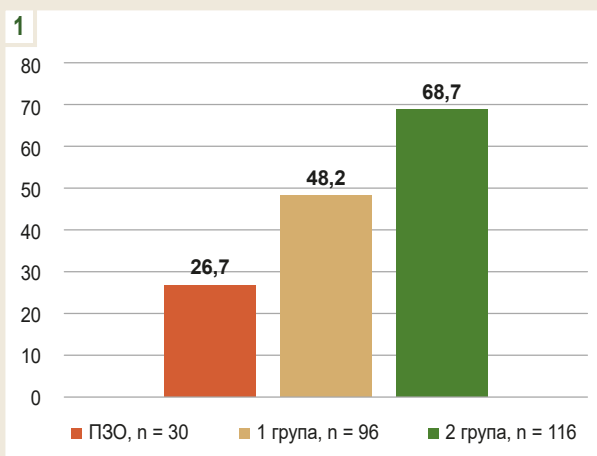


Рис. 1. Результати дослідження активності альфа-амілази крові, г/год × л.

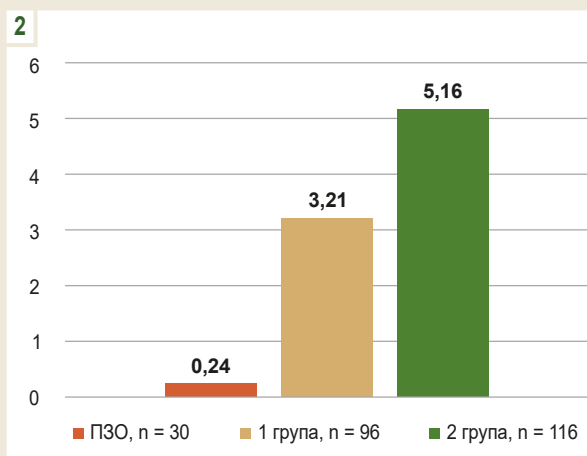


Рис. 2. Вміст у крові С-реактивного білка, мг/мл.

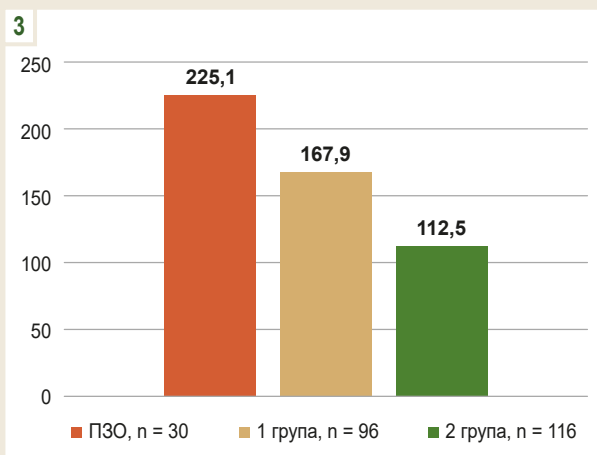


Рис. 3. Вміст фекальної еластази-1, мкг/л.

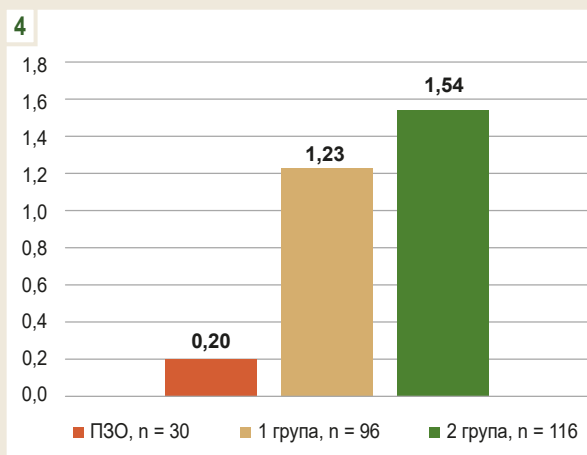


Рис. 4. Ступінь зовнішньосекреторної недостатності ПЗ, за даними опитувальника PEI-Q.

показник L перевищив нормативні в 1,6 раза ($p < 0,05$), різниця від параметра 1 групи вірогідна ($p < 0,05$); це вказує на фіброзування та жирову трансформацію ПЗ. Показник однорідності N у 2 групі знижений у 4,8 раза ($p < 0,05$), різниця між групами достовірна ($p < 0,05$). Показник K у хворих 2 групи також істотно нижчий від нормативних – у 3,5 раза ($p < 0,05$).

Аналіз показників функціонального стану ПЗ у фазі загострення вказує на синдром гіперферментемії: активність α -амілази у пацієнтів 1 та 2 груп значно вища порівняно з групою контролю – в 1,8 та 2,6 раза відповідно ($p < 0,05$) (рис. 1).

Вміст у крові С-реактивного білка вірогідно вищий щодо показника ПЗО у хворих обох груп – у 13,4 та 21,5 раза відповідно. Це вказує на загострення хронічного запального процесу у тканині ПЗ (рис. 2). Максимальне зростання вмісту С-реактивного протеїну у крові у хворих 2 групи свідчить про внесок ХОЗЛ у підвищення цього показника.

Про наростаючу зовнішньосекреторну недостатність ПЗ у хворих на ХП свідчило вірогідне зниження вмісту фекальної еластази-1, що визначили у хворих 1 та 2 груп, – в 1,3 та 2,0 раза ($p_{1,2} < 0,05$) відповідно порівняно з нормою, особливо при коморбідному ХОЗЛ (рис. 3).

Ці факти підтверджує аналіз результатів опитування обстежених, що здійснили за допомогою опитувальника Pancreatic Exocrine Insufficiency Questionnaire (PEI-Q). Так, показник TSS перевищував дані у ПЗО в 1 групі у 6,2 раза, що свідчить про переважання випадків ХП із легкою ЗСН ПЗ ($p_1 < 0,05$). У хворих 2 групи показник TSS перевищував дані у ПЗО у 7,7 раза (рис. 4), а отже переважали випадки ХП із середньої тяжкості ЗСН ПЗ ($p_2 < 0,05$), що потребує тривалої замісної поліферментної терапії.

Обговорення

Отже, перебіг хронічного панкреатиту за коморбідності з ХОЗЛ характеризується вірогідно нижчою частотою нападopodobного абдомінально-больового синдрому та

його меншою інтенсивністю порівняно з ізольованим перебігом ХП. Це можна пояснити зниженням чутливості больових рецепторів у паренхімі підшлункової залози внаслідок гіпоксії та зміни їхньої конформаційної структури внаслідок оксидативного стресу. Проте при коморбідності з ХОЗЛ визначили вищу частоту постійного ниючого болю в проекції підшлункової залози, що пов'язано з наявністю хронічного системного запального процесу у бронхах і тканині ПЗ, а також максимального інтенсивності запалення ($p < 0,05$) та гіперферментемії ($p < 0,05$) серед груп порівняння. Підтвердженням цього факту є зміни сонографічної структури підшлункової залози: збільшення розмірів, діаметра вірсунгової протоки, посилення ехогенності ПЗ у результаті чергування гіпоехогенних (ділянки запалення та інфільтрації) та гіперехогенних (осередки фіброзу й кальцифікації) ділянок на тлі змін паренхіми середньої ехогенності. Біль характеризувався переважанням іррадіації в праву підреберну ділянку. Це свідчить про переважне ураження голівки ПЗ внаслідок протокової гіпертензії, яке зумовлене хронічним спазмом сфінктера Одді, що підтверджується розширенням вірсунгової протоки ПЗ і корелює з наявністю бронхообструктивного синдрому, виникає частіше при ваготонії.

Істотно вища інтенсивність запалення та гіперферментемії за коморбідності ХОЗЛ і ХП зумовила вищу інтенсивність астено-вегетативного синдрому, який відбиває синдром ендогенної інтоксикації, порівняно відповідними параметрами при ізольованому перебігу ХП. Вища інтенсивність проявів шлункової та кишкової диспепсії при коморбідному перебігу ХП і ХОЗЛ свідчить про зовнішньосекреторну дисфункцію ПЗ, що наростає. Це підтверджують показники зниження активності еластази-1 калу ($p < 0,05$), що зумовлене прогресивним заміщенням тканини ПЗ фіброзною тканиною та атрофією ацинарного епітелію. Свідченням цього факту є чергування гіперехогенних (осередки фіброзу та кальцифікації) ділянок на тлі змін паренхіми середньої ехогенності (запалення), а також зміни гістографічних показників (підвищення L в 1,6 раза, зниження показників N у 4,6 раза, K – у 3,5 раза). Це підтверджує максимальний ступінь фіброзування порівняно з іншими групами дослідження.

Феномени, що визначили у результаті дослідження, вказують на наявність синдрому взаємного обтяження клінічного перебігу ХП і ХОЗЛ у разі їх коморбідного перебігу та актуалізують вивчення нових патогенетичних ланок прогресування коморбідних захворювань.

Висновки

1. Хронічний панкреатит за коморбідності з ХОЗЛ характеризується вірогідно нижчою частотою нападоподібного абдомінально-больового синдрому та його меншою інтенсивністю порівняно з ізольованим перебігом ХП. Поєднаний перебіг цих патологій характеризується вищою частотою постійного ниючого болю в проекції підшлункової залози з переважанням іррадіації в праву підреберну ділянку, значною інтенсивністю

проявів шлункової та кишкової диспепсії, максимальною інтенсивністю запалення ($p < 0,05$), гіперферментемії ($p < 0,05$), зниженням активності еластази-1 калу ($p < 0,05$), а також вищою інтенсивністю астено-вегетативного, больового, диспепсичного, інтоксикаційного синдромів і зовнішньосекреторної дисфункції ПЗ порівняно з такими при ізольованому перебігу ХП.

2. У хворих на хронічний панкреатит, поєднаний з ХОЗЛ, встановлено максимально виражені ($p < 0,05$) зміни сонографічної структури підшлункової залози: збільшення розмірів, діаметра вірсунгової протоки, посилення ехогенності ПЗ у результаті чергування гіпоехогенних (ділянки запалення та інфільтрації) та гіперехогенних (осередки фіброзу та кальцифікації) ділянок на тлі змін паренхіми середньої ехогенності, зміни гістографічних показників (підвищення L в 1,6 раза, зниження показників N у 4,6 раза, K – у 3,5 раза). Це вказує на максимальний ступінь фіброзування порівняно з параметрами інших груп дослідження.

Перспективи подальшого дослідження полягають у вивченні впливу коморбідного ХП на клінічну симптоматику ХОЗЛ, частоту та тяжкість його загострень.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Хухліна О. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних захворювань, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-1086-2785

Дудка І. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних захворювань, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-9941-1878

Дудка Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних захворювань, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-8770-8164

Information about authors:

Khukhlina O. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Dudka I. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

Dudka T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine.

References

- Zhelezniakova NM, Pasiyeshvili TM. [Features of clinical manifestation of chronic obstructive pulmonary disease in patients with chronic pancreatitis]. *Simeina medytyna*. 2015;(2):69-72. Ukrainian. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/simmed_2015_6_23
- Hristich T, Hontsariuk D. [Pathogenetic aspects of chronic pancreatitis and chronic obstructive pulmonary disease comorbidity]. *Gastroenterology*. 2021;53(1):54-61. Ukrainian. doi: 10.22141/2308-2097.53.1.2019.163459
- Kandikattu HK, Upparahalli Venkateshaiah S, Kumar S, Yadavalli CS, Mishra A. IL-18-mediated neutrophil recruitment promotes acute lung injury in inflammation-mediated chronic pancreatitis. *Mol Immunol*. 2023;155:100-9. doi: 10.1016/j.molimm.2023.01.012

4. Khukhlina OS, Ursul OO, Gaydichuk VS. [Influence of exogenous glutathione on the system of antioxidant protection of the body in case of comorbid course of chronic obstructive pulmonary disease and chronic pancreatitis]. *Zaporozhye medical journal*. 2015;(4):92-4. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1210.2015.4.50273](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2015.4.50273)
5. Cavalli G, Colafrancesco S, Emmi G, Imazio M, Lopalco G, Maggio MC, et al. Interleukin 1α: a comprehensive review on the role of IL-1α in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2021;20(3):102763. doi: [10.1016/j.autrev.2021.102763](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102763)
6. Lazaruk TY, Fediv OI. [Assessment of the life quality of patients with chronic pancreatitis combined with chronic obstructive pulmonary disease]. *Art of Medicine*. 2021;(4):51-5. Ukrainian. Available from: <https://art-of-medicine.ifnu.edu.ua/index.php/aom/article/view/590>
7. Ministry of Health of Ukraine. [On approval and implementation of medical and technological documents on the standardization of medical care for chronic pancreatitis]. Order dated 2014 Sep 10 No. 638 [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 2]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0638282-14#Text>
8. Ministry of Health of Ukraine. [On approval of the Unified Clinical Protocol of Primary and Specialized Medical Care "Chronic Pancreatitis"]. Order dated 2023 Jul 4 No. 1204 [Internet]. 2023 [cited 2024 Jan 2]. Ukrainian. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1204282-23#Text>
9. Balázs A, Balla Z, Kui B, Maléth J, Rakonczay Z Jr, Duerr J, et al. Ductal Mucus Obstruction and Reduced Fluid Secretion Are Early Defects in Chronic Pancreatitis. *Front Physiol*. 2018;9:632. doi: [10.3389/fphys.2018.00632](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00632)
10. Benjamin O, Lappin SL. Chronic Pancreatitis. 2022 Jun 21. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.
11. Forsmark CE. Diagnosis and Management of Exocrine Pancreatic Insufficiency. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2018;16(3):306-15. doi: [10.1007/s11938-018-0186-y](https://doi.org/10.1007/s11938-018-0186-y)
12. Frøkjær JB, Akisik F, Farooq A, Akpinar B, Dasyam A, Drewes AM, et al. Guidelines for the Diagnostic Cross Sectional Imaging and Severity Scoring of Chronic Pancreatitis. *Pancreatology*. 2018;18(7):764-73. doi: [10.1016/j.pan.2018.08.012](https://doi.org/10.1016/j.pan.2018.08.012)
13. Duggan SN. Negotiating the complexities of exocrine and endocrine dysfunction in chronic pancreatitis. *Proc Nutr Soc*. 2017 Nov;76(4):484-494. doi: [10.1017/S0029665117001045](https://doi.org/10.1017/S0029665117001045)
14. Gurakar M, Jalaly NY, Faghieh M, Boortalary T, Azadi JR, Khashab MA, et al. Impact of genetic testing and smoking on the distribution of risk factors in patients with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol*. 2022;57(1):91-8. doi: [10.1080/00365521.2021.1984573](https://doi.org/10.1080/00365521.2021.1984573)
15. Patel HR, Diaz Almanzar VM, LaComb JF, Ju J, Bialkowska AB. The Role of MicroRNAs in Pancreatitis Development and Progression. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1057. doi: [10.3390/ijms24021057](https://doi.org/10.3390/ijms24021057)
16. Shabanzadeh DM, Novovic S. Alcohol, smoking and benign hepato-biliary disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(5):519-27. doi: [10.1016/j.bpg.2017.09.005](https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.09.005)
17. Shuja A, Rahman AU, Skef W, Smotherman C, Guan J, Malespin M, et al. A longitudinal analysis of the epidemiology and economic impact of inpatient admissions for chronic pancreatitis in the United States. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(4):499-505. doi: [10.20524/aog.2018.0262](https://doi.org/10.20524/aog.2018.0262)
18. Singhvi A, Yadav D. Myths and realities about alcohol and smoking in chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2018;34(5):355-61. doi: [10.1097/MOG.0000000000000466](https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000466)
19. Abbott. User manual for the pancreatic exocrine insufficiency questionnaire (PEI-Q) clinical practice version. Adelphi Values UK; 2018. 12 p. Available from: <https://acarepro.abbott.com/wp-content/uploads/2022/08/60937.pdf>
20. Min M, Patel B, Han S, Bocelli L, Kheder J, Vaze A, et al. Exocrine Pancreatic Insufficiency and Malnutrition in Chronic Pancreatitis: Identification, Treatment, and Consequences. *Pancreas*. 2018;47(8):1015-8. doi: [10.1097/MPA.0000000000001137](https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001137)
21. Johnson CD, Arbuckle R, Bonner N, Connett G, Dominguez-Munoz E, Levy P, et al. Qualitative Assessment of the Symptoms and Impact of Pancreatic Exocrine Insufficiency (PEI) to Inform the Development of a Patient-Reported Outcome (PRO) Instrument. *Patient*. 2017;10(5):615-28. doi: [10.1007/s40271-017-0233-0](https://doi.org/10.1007/s40271-017-0233-0)
22. Babinets LS, Kytsai KY. [Comparative analysis of the structure and function of the pancreas in patients with a combination of chronic pancreatitis and metabolic syndrome]. *Family Medicine. European Practices*. 2023;(2):30-4. Ukrainian. doi: [10.30841/2786-720X.2.2023.281214](https://doi.org/10.30841/2786-720X.2.2023.281214)
23. Babinets LS, Sabat ZI. [Clinical and pathogenetic aspects of chronic pancreatitis in conjunction with autonomic dysfunction]. *Gastroenterology*. 2019;53(1):21-5. Ukrainian. doi: [10.22141/2308-2097.53.1.2019.163453](https://doi.org/10.22141/2308-2097.53.1.2019.163453)
24. Ministry of Health of Ukraine. [Adapted evidence-based clinical guideline "Chronic obstructive pulmonary disease"]. Kyiv; 2020. 69 p. Available from: http://www.ifp.kiev.ua/ftp1/metoddoc/nastanova_hozl_2020.pdf
25. Sun J, Su W, Zhao X, Shan T, Jin T, Guo Y, et al. LncRNA PFAR contributes to fibrogenesis in lung fibroblasts through competitively binding to miR-15a. *Biosci Rep*. 2019;39(7):BSR20190280. doi: [10.1042/BSR20190280](https://doi.org/10.1042/BSR20190280)
26. Zhao X, Sun J, Chen Y, Su W, Shan H, Li Y, et al. lncRNA PFAR Promotes Lung Fibroblast Activation and Fibrosis by Targeting miR-138 to Regulate the YAP1-Twist Axis. *Mol Ther*. 2018;26(9):2206-17. doi: [10.1016/j.ymthe.2018.06.020](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.06.020)



Вплив каротидної атеросклеротичної бляшки на показники жорсткості сонних артерій у хворих на гіпертонічну хворобу з супутнім цукровим діабетом 2 типу та без нього

В. В. Сиволап¹ A,B,E,F, А. О. Богун² *B,C,D

Запорізький державний медико-фармацевтичний 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 – порівняти пружно-еластичні властивості загальних сонних артерій (ЗагСА) у пацієнтів із гіпертонічною хворобою (ГХ) II стадії залежно від наявності цукрового діабету (ЦД) та атеросклеротичної бляшки <50 % сонних артерій.

Матеріали і методи. До дослідження залучили 80 пацієнтів із ГХ II стадії, із них 43 – без ЦД 2 типу, 37 – із ЦД 2 типу; середній вік – 57,7 року; 55,3 % чоловіків. Досліджували основні антропометричні дані, лабораторні показники ліпідного та вуглеводного обміну, креатинін, дані добового моніторингу артеріального тиску, ехокардіоскопії, товщину комплексу інтима-медіа, показники локальної жорсткості: діаметр артерій, розтяжність, коефіцієнт розтяжності (DC) та податливості (CC), індекси жорсткості α , β , локальну швидкість пульсової хвилі (PWV), тиск та індекс аугментації (використовуючи технології аналізу радіочастотного сигналу). Здійснено статистичний аналіз, вірогідність відмінностей – на рівні $p < 0,05$.

Результати. Наявність атеросклеротичної бляшки в каротидному басейні в групі хворих на ГХ без ЦД встановила 51,1 % випадків, із ЦД – 54,0 % ($p = 0,79$). Порівнявши пружно-еластичні властивості загальних сонних артерій у пацієнтів без атеросклеротичної бляшки достовірних відмінностей не виявили. У хворих на ГХ і ЦД 2 типу з атеросклеротичною бляшкою діаметр ЗагСА вірогідно більший на 11,8 % ($p = 0,03$); також у них вищий показник CC (на 23,6 %, $p = 0,049$) порівняно з пацієнтами із ГХ без ЦД. У хворих на ГХ і ЦД та без нього визначено порогові величини, асоційовані з наявністю атеросклерозу для показника товщини комплексу інтима-медіа лівої ЗагСА, проте порівняння площ під ROC-кривими не виявило статистичної різниці порогових значень у групах дослідження ($p = 0,681$).

Висновки. Особливістю ремоделювання сонних артерій у хворих на ГХ і ЦД на стадії наявності бляшки слід вважати істотніше збільшення діаметра ЗагСА зі збереженням розтяжності вільної від бляшки судинної стінки, при цьому додавання до одного фактора ризику (ГХ) другого чинника (ЦД) не супроводжується статистично достовірним збільшенням товщини комплексу інтима-медіа як обов'язкової передумови появи каротидної атеросклерозу.

Ключові слова: атеросклероз, жорсткість судинної стінки, гіпертонічна хвороба, цукровий діабет.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 60-69

The influence of carotid plaque on carotid artery stiffness indicators in hypertensive patients with and without accompanying type 2 diabetes

V. V. Syvolap, A. O. Bohun

Aim. To compare the elastic properties of the common carotid arteries (CCA) in patients with stage II hypertension (HTN) depending on the presence of diabetes mellitus (DM) and atherosclerotic plaque (ASP) <50 % of carotid arteries (CA).

Materials and methods. The study included 80 patients with stage II HTN, 43 of them without type 2 DM, 37 with type 2 DM, average age – 57.7, 55.3 % men. Basic anthropometric data, laboratory indicators of lipid and carbohydrate metabolism, creatinine, data of daily blood pressure monitoring, echocardiography, intima-media thickness, local stiffness indicators: artery diameter, distensibility, the distensibility coefficient (DC), and compliance coefficient (CC), stiffness indices α , β , local pulse wave velocity (PWV), pressure and augmentation index (using radiofrequency-based technologies) were studied. Statistical analysis was performed; the probability of differences is at the level of $p < 0.05$.

Results. The prevalence of ASP in the carotid basin in the group of patients with HTN without DM was 51.1 %, with DM – 54.0 % ($p = 0.79$). While comparing the elastic properties of CCA of patients without ASP, no reliable similarities were found in the studied indicators. In patients with HTN, accompanying type 2 DM with ASP, the diameter of the CCA was significantly larger by 11.8 % ($p = 0.03$), and the CC was also higher by 23.6 % ($p = 0.049$) than in patients with HTN without DM. In patients with HTN with and without DM the limit levels for

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/297229>

UDC 616.133-004.6:616.53-006.03:616.12-008.331.1
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.297229](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.297229)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):60-69

Keywords: atherosclerosis, local arterial stiffness, hypertension, diabetes mellitus.

*E-mail: yaroshangelina@gmail.com

Received: 26.12.2023 // Revised: 09.01.2024 // Accepted: 22.01.2024

the intima-media thickness of the left CCA associated with the presence of atheroma were determined, however, the comparison of the areas under the ROC curves did not reveal a statistical difference in the cut-off values in the studied groups ($p = 0.681$).

Conclusions. A feature of CCA remodeling in HTN patients with DM at the stage of ASP presence should be considered a more substantial increase in the diameter of the CCA with preservation of the distensibility of the plaque-free vascular wall. The addition of a second factor (DM) to one risk factor (HTN) is not accompanied by a further statistically significant increase in IMT as a mandatory prerequisite for the appearance of ASP.

Keywords: atherosclerosis, local arterial stiffness, hypertension, diabetes mellitus.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):60-69

Артеріальна гіпертензія (АГ) і цукровий діабет 2 типу (ЦД) – два основні фактори ризику серцево-судинних захворювань (ССЗ). Встановлено, що люди з коморбідною патологією мають більший ризик, ніж ті, хто має лише одну хворобу. Серцево-судинні захворювання є основною причиною смертності пацієнтів із ЦД 2 типу, і ризик розвитку ССЗ у них у 2–4 рази вищий, ніж у пацієнтів без діабету [1]. Проте предметом наукової дискусії залишається питання щодо причин цього: чи це проста комбінація факторів, чи їхня синергічна взаємодія [2].

У пацієнтів із ЦД 2 типу та гіпертонічною хворобою жорсткість артерій пов'язана зі зростанням серцево-судинної та загальної смертності [3]. У рекомендаціях ESC/ESH щодо лікування артеріальної гіпертензії від 2018 року зазначено, що артеріальна жорсткість, оцінена за допомогою швидкості пульсової хвилі (PWV) та аналізу пульсової хвилі (PWA), є встановленою проміжною сурогатною кінцевою точкою судинної дисфункції. Однак дослідження цих параметрів у рутинній клінічній практиці не поширене [4].

Атеросклероз (АС) є патологічною основою макрота мікросудинних ускладнень, і сонну артерію можна визначити як модель для вивчення умов, спільних для всіх уражених артерій. Виявлення структурно-функціональних порушень загальної сонної артерії (ЗагСА) за допомогою дуплексної ультрасонографії є найпопулярнішим методом оцінювання системного атеросклерозу артерій, тому її дослідження з використанням сучасних технологій радіочастотного (RF) аналізу є предметом наукового інтересу, особливо в пацієнтів із коморбідною патологією.

Мета роботи

Порівняти пружно-еластичні властивості ЗагСА у пацієнтів із гіпертонічною хворобою II стадії залежно від наявності цукрового діабету та атеросклеротичної бляшки <50 % сонних артерій.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 80 пацієнтів із гіпертонічною хворобою II стадії: 43 хворих – без ЦД 2 типу, 37 осіб – із ЦД 2 типу; 11 обстежених – від 35 до 80 років (середній вік – $57,7 \pm 11,0$ року); 55,3 % чоловіків. Критерій залучення – ознаки II ступеня ГХ, зокрема наявність гіпертрофії лівого шлуночка (ЛШ) та/або наявність атеросклеротичної бляшки зі стенозом <50 %, та/або пульсовий тиск >60 mmHg,

та/або швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) 30–60 мл/хв/1,73 м².

Оцінювали 10-річний ризик серцево-судинної події за шкалою SCORE-2, SCORE-2-OP, SCORE2-Diabetes (із використанням офіційного додатку ESC), індекс маси тіла (ІМТ, за формулою: $ІМТ = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст(см}^2\text{)}$), обвід талії. З-поміж лабораторних показників вивчали глюкозу (ммоль/л), інсулін (мкМО/мл), індекс НОМА-IR, глікований гемоглобін (HbA1c), загальний холестерин (ЗХ, ммоль/л), ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ, ммоль/л), ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ, ммоль/л), тригліцериди (ТГ, ммоль/л); креатинін (ммоль/л), швидкість клубочкової фільтрації (розрахована за формулою EPI (ШКФ), мл/хв/1,73 м²).

Добовий моніторинг артеріального тиску (ДМАТ) здійснили монітором ABMP 50 (Наесо), дослідили показники середнього добового, денного, нічного систолічного та діастолічного артеріального тиску (АТ), відсоток навантаження систолічним і діастолічним АТ вдень і вночі, пульсовий тиск і частоту серцевих скорочень (ЧСС) вдень, тип добового ритму за величиною нічного зниження АТ – *dipper* (достатнє зниження, 10–20 %), *nondipper* (недостатнє зниження АТ, <10 %), *night-peacker* (підвищення АТ у нічні години), *over-dipper* (надмірне зниження АТ вночі, >20 %).

Ехокардіографію (ЕхоКГ) та дослідження сонних артерій здійснювали на апараті Esaote MyLab Eight (Італія). ЕхоКГ виконували за загальноприйнятими правилами відповідно до рекомендацій European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI) та American Society of Echocardiography (ASE) [5]. Аналізували такі дані: діаметр висхідної аорти (АО), товщину міжшлуночкової перетинки (МШП) та задньої стінки ЛШ (ЗС ЛШ), кінцево-діастолічний розмір ЛШ (КДР), індекс кінцево-діастолічного об'єму ЛШ (іКДО), індекс маси міокарда лівого шлуночка (іММЛШ), обчислений за формулою, що рекомендована Американським товариством ехокардіографії (ASE), відносну товщину стінки (ВТС), діаметр лівого передсердя (ЛП), індекс об'єму лівого передсердя (іоЛП), фракцію викиду лівого шлуночка (ФВ); а також показники тканинного доплера: *e' med* – рання діастолічна швидкість медіальної частини фіброзного кільця мітрального клапана (ФК МК); *e' lat* – рання діастолічна швидкість латеральної частини ФК МК; *E/e' sr* – відношення ранньої швидкості мітрального току до *e'* середнього. Вивчали також систолічний тиск у легеневій артерії, дані щодо клапанних дисфункцій,

звіт щодо площі поверхні тіла пацієнта, індексу маси тіла.

Клапанні дисфункції, тяжчі за легкий ступінь, – критерій вилучення з дослідження.

Дослідження сонних артерій виконували лінійним датчиком із використанням технологій RF-QIMT, RF-QAS за загальноприйнятими правилами відповідно до консенсусного документа Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011) [6]. Товщину комплексу інтима-медіа (КИМ) і показники жорсткості вимірювали в дистальному відділі ЗагСА недалеко від місця біфуркації, відступивши принаймні 5 мм від неї, по дальній стінці у ділянці, вільній від атеросклеротичних бляшок. За допомогою технології RF-QAS визначили такі параметри жорсткості загальної сонної артерії, виміряні в тій самій ділянці, де розраховували товщину комплексу інтима-медіа (QIMT): діаметр артерії в діастолу (D, мм), розтяжність (ΔD), коефіцієнт розтяжності (DC, 1/кПа), коефіцієнт податливості (CC, мм²/кПа), індекс жорсткості α (безрозмірний), індекс жорсткості β (безрозмірний), локальну швидкість пульсової хвилі (PWV, м/с), тиск аугментації (AP, mmHg) індекс аугментації (Aix).

Статистичний аналіз здійснено за допомогою програми Statistica for Windows 13.0 (StatSoft Inc., США; ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J) і MedCalc.10.2.0.0. Кількісні величини наведено як середнє арифметичне (M) та стандартне відхилення (SD); якісні показники – як абсолютну частоту та відсотки (n (%)). Для визначення методу аналізу кількісні показники перевірили на відповідність закону нормального розподілу, використовуючи критерій Шапіро–Вілка. Згідно з ним, при значенні $p < 0,05$ розподіл визначали як такий, що не відповідає нормальному закону. Різницю кількісних показників у групах дослідження визначали методом непараметричної статистики для даних із розподілом, що не відповідає закону нормальності, використовуючи критерій Mann–Whitney U test; для даних із нормальним розподілом – t-критерій Стьюдента. Для порівняння якісних параметрів застосували критерій χ^2 -квадрат Пірсона. Кореляційний аналіз кількісних показників здійснили, використавши параметри достовірності Спірмена для даних, що не відповідали нормальному розподілу; Пірсона – із нормальним типом розподілу. Для виявлення оптимальної точки розподілу кількісних ознак (оптимального співвідношення чутливості та специфічності) виконали ROC-аналіз із побудовою характеристичної кривої. Відмінності вважали вірогідними при значеннях $p < 0,05$.

Результати

У таблиці 1 наведено дані, що визначили у групах пацієнтів із гіпертонічною хворобою II стадії, поділених за критерієм наявності ЦД 2 типу. Встановили, що групи достовірно відрізнялись за антропометричними характеристиками. Так, пацієнти із ЦД 2 типу мали вищий бал SCORE – на 44,4 % ($28,3 \pm 8,7$ vs $15,8 \pm 8,5$, $p < 0,001$), більшу масу тіла – на 11,8 % ($97,5 \pm 15,0$ кг vs $86,0 \pm 15,0$

кг, $p = 0,006$), вищий ІМТ – на 10,5 % ($33,2 \pm 4,5$ кг/м² vs $29,7 \pm 4,6$ кг/м², $p = 0,002$), більший обвід талії – на 10,6 % ($106,5 \pm 10,6$ см vs $95,2 \pm 12,2$ см, $p < 0,001$), вищий відсоток жирової тканини – на 16,4 % ($38,8 \pm 9,0$ % vs $32,4 \pm 8,9$ %, $p = 0,003$).

Серед лабораторних показників у хворих на ЦД 2 типу визначили вірогідно вищий рівень глюкози крові – на 45,1 % ($9,9 \pm 1,0$ ммоль/л vs $5,4 \pm 0,9$ ммоль/л, $p < 0,001$), HbA1c – на 29,4 % ($8,0 \pm 0,3$ % vs $5,7 \pm 0,3$ %, $p < 0,001$), інсуліну – на 41,2 % ($22,6 \pm 6,5$ мкМО/мл vs $13,3 \pm 6,7$ мкМО/мл, $p = 0,003$), індекс НОМА-IR – на 63,7 % ($9,8 \pm 1,9$ vs $3,6 \pm 2,0$, $p < 0,001$). За показниками ліпідного обміну, функції нирок достовірних відмінностей не виявили.

За даними ДМАТ, пацієнти із ЦД 2 типу мали на 5 % вищий середній добовий САТ ($139,9 \pm 14,0$ mmHg vs $132,8 \pm 12,9$ mmHg, $p = 0,018$), переважно через нічне підвищення САТ – на 9 % ($138,5 \pm 17,7$ mmHg vs $126 \pm 16,2$ mmHg, $p = 0,006$), а також внаслідок підвищення САТ вдень – на 4,2 % ($140,5 \pm 13,4$ mmHg vs $134,6 \pm 12,5$ mmHg, $p = 0,025$). При цьому навантаження САТ достовірно вище в нічні години – на 26,9 % ($74,2 \pm 34,2$ % vs $54,3 \pm 34,2$ %; $p = 0,019$), у денні години – на 25,5 % ($59,6 \pm 27,6$ % vs $44,4 \pm 26,3$ %, $p = 0,029$). Пульсовий тиск у групі пацієнтів із ЦД вищий на 17,2 % ($59,3 \pm 9,4$ mmHg vs $52,2 \pm 12,2$ mmHg, $p = 0,009$). За типами нічного зниження АТ у групі із ЦД достовірно більше випадків з night-peaker (35,1 % vs 13,9 % $p = 0,02$), достовірно менше – із типом dipper (24,3 % vs 46,5 %, $p = 0,039$).

З-поміж показників ЕхоКС у групі хворих на ЦД визначили достовірно більші розміри висхідної аорти – на 5,3 % ($3,4 \pm 0,4$ см vs $3,2 \pm 0,4$ см, $p = 0,045$), лівого передсердя – на 5,8 % ($4,2 \pm 0,5$ см vs $3,9 \pm 0,5$ см, $p = 0,033$), товщини МШП – на 9,9 % ($1,16 \pm 0,20$ см vs $1,04 \pm 0,20$ см, $p = 0,007$), ЗС ЛШ – на 9,3 % ($1,03 \pm 0,20$ см vs $0,94 \pm 0,20$ см, $p = 0,005$), ВТС ЛШ – на 8,8 % ($0,44 \pm 0,10$ vs $0,40 \pm 0,07$, $p = 0,011$); різниця показників iММЛШ у групах порівняння не досягла рівня достовірності. Вивчаючи розподіл за типами геометрії ЛШ, встановили: нормальну геометрію в групі пацієнтів із ЦД визначили вірогідно рідше (13,5 % vs 32,4 %, $p = 0,04$) внаслідок більшої поширеності концентричного ремоделювання та гіпертрофії. Крім того, значення ФВ у групі хворих на ГХ і ЦД нижче на 5 % ($60,4 \pm 7,3$ % vs $63,6 \pm 7,4$ %, $p = 0,049$), а значення показників діастолічної функції достовірно відрізнялися лише за параметром e'_{lat} та були нижчими на 18,8 % ($8,0 \pm 3,2$ см/с vs $9,8 \pm 2,8$ см/с, $p = 0,002$).

У групі хворих на ГХ без ЦД поширеність атероми в каротидному басейні становила 51,1 %, у пацієнтів із цукровим діабетом – 54,0 % ($p = 0,79$). Надалі для порівняння брали найгірші показники сканування правої або лівої ЗагСА, достовірних відмінностей показників не виявили.

Щоб підвищити статистичну достовірність, під час наступного аналізу показників пружно-еластичних властивостей ЗагСА у групах пацієнтів залежно від наявності атероми каротидного басейну для обчислення взято показники з обох СА у групі без атероми (табл. 2).

Таблиця 1. Загальна характеристика хворих на гіпертонічну хворобу II стадії за групами, що визначені за критерієм наявності ЦД 2 типу

Показник, одиниці вимірювання	Хворі на ГХ (n = 43)	Хворі на ГХ і ЦД (n = 37)	% різниці	p
Антропометричні показники				
Вік, роки	58 ± 8,8	60,4 ± 11,0	4,0 %	0,270
Бал SCORE	15,8 ± 8,5	28,3 ± 8,7	44,4 %	<0,001
Куріння	32,6 % (n = 14)	40,5 % (n = 15)	–	0,480
Зріст, см	170,3 ± 10,8	171,4 ± 10,8	0,7 %	0,860
Маса тіла, кг	86,0 ± 15,0	97,5 ± 15,0	11,8 %	0,006
ІМТ, кг/см ²	29,7 ± 4,6	33,2 ± 4,5	10,5 %	0,002
Обвід талії, см	95,2 ± 12,2	106,5 ± 10,6	10,6 %	<0,001
Жирова тканина, %	32,4 ± 8,9	38,8 ± 9,0	16,4 %	0,003
Лабораторні показники				
Глюкоза, ммоль/л	5,4 ± 0,9	9,9 ± 1,0	45,1 %	<0,001
ГіА1с, %	5,7 ± 0,3	8,0 ± 0,3	29,4 %	<0,001
Інсулін, мкМО/мл	13,3 ± 6,7	22,6 ± 6,5	41,2 %	0,003
Індекс НОМА-ІR	3,6 ± 2,0	9,8 ± 1,9	63,7 %	<0,001
ЗХ, ммоль/л	6,2 ± 1,2	5,5 ± 1,5	10,9 %	0,190
ЛПНЩ, ммоль/л	3,8 ± 1,4	3,1 ± 1,4	17,9 %	0,120
ЛПВЩ, ммоль/л	1,7 ± 0,6	1,5 ± 0,6	13,7 %	0,130
ТГ, ммоль/л	1,8 ± 1,4	2,2 ± 1,5	17,6 %	0,070
Креатинін, ммоль/л	0,095 ± 0,021	0,104 ± 0,021	8,8 %	0,110
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	69,8 ± 16,6	64,9 ± 16,8	6,9 %	0,250
Дані ДМАТ				
Ср САТ, ммHg	132,8 ± 12,9	139,9 ± 14,0	5,0 %	0,018
Ср ДАТ, ммHg	80,4 ± 9,3	79,8 ± 9,3	0,8 %	0,690
Ср САТ день, ммHg	134,6 ± 12,5	140,5 ± 13,4	4,2 %	0,025
Ср ДАТ день, ммHg	82,3 ± 8,8	81,4 ± 9,6	1,1 %	0,530
Ср САТ ніч, ммHg	126 ± 16,2	138,5 ± 17,7	9 %	0,006
Ср ДАТ ніч, ммHg	73,8 ± 9,8	74,8 ± 9,8	1,4 %	0,630
САТ load день, %	44,4 ± 26,3	59,6 ± 27,6	25,5 %	0,029
ДАТ load ніч, %	36,7 ± 26,8	32,1 ± 26,8	12,4 %	0,590
САТ load ніч, %	54,3 ± 34,2	74,2 ± 34,2	26,9 %	0,019
ДАТ load ніч, %	54,9 ± 29,6	58,5 ± 30,0	6,3 %	0,490
Dipper	46,5 % (n = 20)	24,3 % (n = 9)	–	0,039
Non-dipper	37,2 % (n = 16)	40,5 % (n = 15)	–	0,760
Night-peacker	13,9 % (n = 6)	35,1 % (n = 13)	–	0,020
Over-dipper	2,3 % (n = 1)	0	–	0,350
ПТ день, ммHg	52,2 ± 12,2	59,3 ± 9,4	17,2 %	0,009
ЧСС день, уд./хв	74,1 ± 8,5	74,3 ± 8,7	0,2 %	0,910
Основні ехокардіографічні показники				
Ао, см	3,2 ± 0,4	3,4 ± 0,4	5,3 %	0,045
ЛП, см	3,9 ± 0,5	4,2 ± 0,5	5,8 %	0,033
іюЛП, мл/м ²	30,9 ± 7,6	34,2 ± 7,8	9,6 %	0,080

Продовження таблиці 1.

Показник, одиниці вимірювання	Хворі на ГХ (n = 43)	Хворі на ГХ і ЦД (n = 37)	% різниці	p
КДР, см	4,98 ± 0,6	5,04 ± 0,6	1,2 %	0,660
іҚДО, мл/м ²	63,9 ± 15,9	60,2 ± 15,6	5,7 %	0,400
КСР, см	3,3 ± 0,6	3,3 ± 0,6	1,0 %	0,900
ФВ, %	63,6 ± 7,4	60,4 ± 7,3	5,0 %	0,049
МШП, см	1,04 ± 0,2	1,16 ± 0,2	9,9 %	0,007
ЗС ЛШ, см	0,94 ± 0,2	1,03 ± 0,2	9,3 %	0,005
ВТС ЛШ	0,40 ± 0,07	0,44 ± 0,07	8,8 %	0,011
іММЛШ, г/м ²	107,1 ± 33,0	115,8 ± 32,0	7,5 %	0,250
Нормальна геометрія	32,6 % (n = 14)	13,5 % (n = 5)	–	0,040
Концентричне ремоделювання	11,6 % (n = 5)	18,9 % (n = 7)	–	0,360
Концентрична гіпертрофія	25,6 % (n = 11)	37,2 % (n = 16)	–	0,260
Ексцентрична гіпертрофія	30,2 % (n = 13)	24,3 % (n = 9)	–	0,550
VE МК, м/с	0,56 ± 0,20	0,51 ± 0,20	9,4 %	0,150
E/A	0,86 ± 0,30	0,80 ± 0,30	7,1 %	0,160
Сист. ТЛА, mmHg	24,3 ± 5,2	23,4 ± 5,2	3,6 %	0,530
e' med, см/с	7,7 ± 1,9	7,5 ± 2,1	2,68 %	0,420
e' lat, см/с	9,8 ± 2,8	8,0 ± 2,7	18,8 %	0,002
E\Еa ср.	6,5 ± 1,9	6,9 ± 1,9	5,4 %	0,910
Н2FPEF, бал	3,1 ± 1,3	3,3 ± 1,3	4,7 %	0,270
Основні показники жорсткості та товщини КІМ ЗагСА				
Наявність бляшки	51,1 % (n = 22)	54,0 % (n = 20)	–	0,790
QІMT зліва, μm	682,6 ± 131,3	735,9 ± 142,0	7,2 %	0,084
QІMT справа, μm	626,6 ± 114,7	675,3 ± 112,9	7,2 %	0,080
ΔD, μm	271,0 ± 97,1	270,9 ± 108,7	0,01%	0,890
D, мм	7,9 ± 0,9	8,1 ± 0,9	3,1 %	0,170
DC, 1/кПа	0,013 ± 0,005	0,012 ± 0,007	2,8 %	0,790
CC, мм ² /кПа	0,66 ± 0,28	0,67 ± 0,29	1,5 %	0,890
α, безрозмірний	6,6 ± 3,5	7,5 ± 3,5	12,1 %	0,630
β, безрозмірний	13,4 ± 7,0	15,2 ± 7,0	12,1 %	0,620
PWV, м/с	8,9 ± 2,1	9,5 ± 2,1	6,7 %	0,450
AP, mmHg	3,2 ± 5,0	2,0 ± 4,7	36,5 %	0,110
Aix, %	3,6 ± 7,3	3,2 ± 7,1	12,2 %	0,370

Дані сформовано з власних спостережень; для кількісних даних наведено середні значення ± SD (стандартне відхилення), для якісних – відсоток у групі і кількість випадків.

Вірогідної різниці за досліджуваними параметрами не виявили, хоча визначили тенденцію до гірших показників у групі хворих на ГХ і ЦД.

У групі пацієнтів з атерою у разі однобічного ураження не брали до уваги артерії без бляшки (табл. 3). У хворих на ГХ і ЦД 2 типу з каротидною атерою діаметр ЗагСА достовірно більший – на 11,8 % (9,3 ± 4,2 мм vs 8,2 ± 0,9 мм, p = 0,03), а також у них встановили вищий коефіцієнт податливості (CC) вільної від атерому стінки – на 23,6 % (0,89 ± 0,40 мм²/кПа vs 0,68 ± 0,37 мм²/кПа,

p = 0,049). Визначено також тенденцію до нижчих значень показників жорсткості – індексів α, β, PWV, порівняно з хворими на ГХ без ЦД.

У результаті ROC-аналізу визначили порогові значення товщини КІМ лівої загальної сонної артерії, що асоціюються з наявною каротидною атерою, для хворих на ГХ без ЦД (рис. 1) та для пацієнтів із ГХ і ЦД (рис. 2). У хворих на ГХ без ЦД такою пороговою величиною для показника товщини КІМ лівої ЗагСА стало значення понад 698 μm (чутливість 65,2 %; специфічність 86,3 %,

Таблиця 2. Показники пружно-еластичних властивостей ЗагСА без стенозуючого атеросклеротичного ураження у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії залежно від наявності ЦД 2 типу

Показник, одиниці вимірювання	Хворі на ГХ	Хворі на ГХ і ЦД	p
n	20 осіб, 40 артерій	17 осіб, 34 артерії	–
Вік, роки	56,7 ± 10,1	59,9 ± 11,5	0,17
QIMT, μm	617,9 ± 107,2	642,4 ± 97,1	0,24
ΔD, μm	276,1 ± 72,8	292,2 ± 115,4	0,98
D, мм	7,7 ± 0,7	7,8 ± 0,5	0,35
DC, 1/кПа	0,014 ± 0,006	0,013 ± 0,006	0,49
CC, мм ² /кПа	0,66 ± 0,29	0,64 ± 0,32	0,49
α, безрозмірний	6,5 ± 3,9	7,2 ± 4,5	0,54
β, безрозмірний	13,2 ± 7,8	14,7 ± 9,1	0,52
PWV, м/с	8,7 ± 2,2	9,4 ± 3,0	0,32
AP, mmHg	3,5 ± 4,9	3,9 ± 6,3	0,31
Aix, %	4,0 ± 5,7	4,6 ± 10,9	0,15

Дані сформовано з власних спостережень. Для кількісних показників наведено середні значення ± SD (стандартне відхилення).

Таблиця 3. Показники пружно-еластичних властивостей ЗагСА зі стенозуючим атеросклеротичним ураженням <50 % у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії залежно від наявності ЦД 2 типу

Показник, одиниці вимірювання	Хворі на ГХ	Хворі на ГХ і ЦД	p
n	22 особи, 31 артерія	20 осіб, 31 артерія	–
Стеноз, %	26,9 ± 6,8	29,7 ± 9,8	0,68
Вік, роки	58,8 ± 8,6	60,4 ± 10	0,79
QIMT, μm	702,1 ± 163,8	766,0 ± 159,5	0,18
ΔD, μm	274,4 ± 138,3	307,9 ± 111,2	0,23
D, мм	8,2 ± 0,9	9,3 ± 4,2	0,03
DC, 1/кПа	0,013 ± 0,007	0,015 ± 0,008	0,42
CC, мм ² /кПа	0,68 ± 0,37	0,89 ± 0,40	0,049
α, безрозмірний	7,6 ± 4,7	6,5 ± 4,4	0,25
β, безрозмірний	15,5 ± 9,3	13,2 ± 8,8	0,24
PWV, м/с	9,5 ± 2,8	8,7 ± 2,9	0,23
AP, mmHg	2,0 ± 2,3	2,2 ± 2,6	0,86
Aix, %	1,7 ± 3,2	4,5 ± 4,3	0,25

Дані сформовано з власних спостережень. Для кількісних показників наведено середні значення ± SD (стандартне відхилення).

$p = 0,0007$), а в пацієнтів із ГХ і ЦД – понад 755 μm (чутливість 45,0 %, специфічність 86,7 %, $p = 0,020$) [7]. Проте порівняння площ під ROC-кривими не виявило статистичної різниці порогових значень у групах дослідження ($p = 0,681$). Так, у хворих на ГХ без ЦД площа під ROC-кривою становила $0,746 \pm 0,072$, у пацієнтів із ГХ і ЦД – $0,700 \pm 0,086$. Це свідчить про абсолютну збігаєність площ під ROC-кривими, а також про те, що жодна з моделей не має переваг.

Встановили, що у хворих на ГХ і ЦД додавання до одного фактора ризику (гіпертензії) другого чинника (цукрового діабету) не супроводжується статистично

достовірним збільшенням товщини КІМ як обов'язкової передумови появи каротидної атерому, тому атеросклеротичні бляшки в сонних артеріях можуть формуватися в них навіть без попереднього досягнення порогового значення товщини КІМ.

Отже, типовою ознакою судинного ремоделювання при формуванні атеросклеротичної бляшки у хворих на ГХ є збільшення діаметра ЗагСА, а додавання до артеріальної гіпертензії цукрового діабету супроводжується істотнішим розширенням сонних артерій. Особливістю ремоделювання сонних артерій у хворих на ГХ і ЦД слід вважати збереження розтяжності вільної від бляшки судинної стінки.

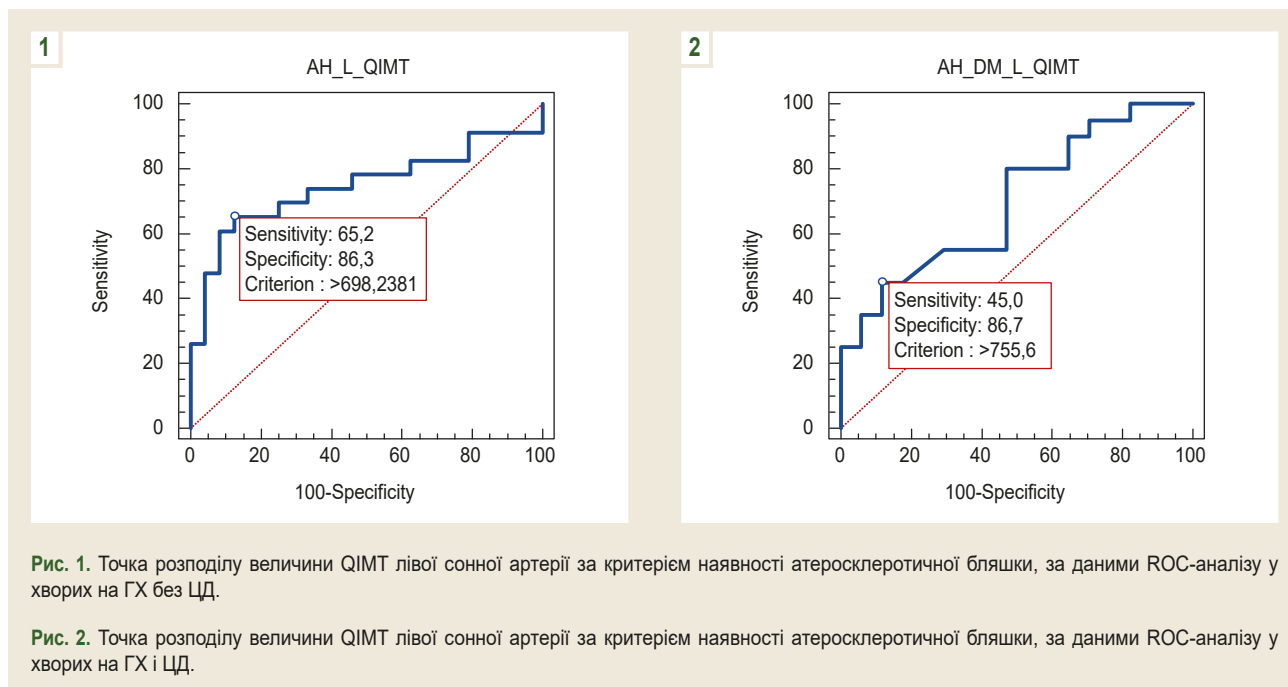


Рис. 1. Точка розподілу величини QIMT лівої сонної артерії за критерієм наявності атеросклеротичної бляшки, за даними ROC-аналізу у хворих на ГХ без ЦД.

Рис. 2. Точка розподілу величини QIMT лівої сонної артерії за критерієм наявності атеросклеротичної бляшки, за даними ROC-аналізу у хворих на ГХ і ЦД.

Обговорення

У попередніх дослідженнях проаналізовано залежність пружно-еластичних властивостей ЗагСА окремо в групі хворих на ГХ [7] та окремо в групі хворих із коморбідною патологією, ГХ у поєднанні з ЦД 2 типу. При ГХ без ЦД кореляція між наявністю атероми та підвищенням показників жорсткості, товщиною КІМ була передбачуваною, і показники були гіршими від тих, що встановлені для артерій пацієнтів зі стенозуючим атеросклеротичним ураженням. Це збігається з даними інших дослідників [8,9]. Разом із тим у групі хворих на ГХ і ЦД виявлено, що підвищення тільки одного показника, а саме коефіцієнта податливості СС понад 0,68 мм²/кПа збільшує ВШ наявної каротидної атероми в 12,7 раза ($p = 0,02$); інші показники розтяжності (індекси жорсткості α та β , PWV), хоча й мали тенденцію до гірших значень у групі без стенозуючого атеросклеротичного ураження, проте не чинили вірогідного впливу. Достовірне збільшення діаметра загальної сонної артерії та товщини КІМ визначили в обох групах дослідження (й у хворих на ГХ, й у пацієнтів із ГХ і ЦД) за наявності каротидної атероми. Під час порівняння груп пацієнтів без стенозуючого атеросклеротичного ураження встановили: відмінності параметрів жорсткості у хворих на ГХ і цукровий діабет і пацієнтів із ГХ без ЦД не досягли рівня статистичної значущості. Втім, у групі з атероною сонної артерії хворих на ГХ і цукровий діабет мали на 11,8 % більший діаметр, а також вищий показник коефіцієнта податливості СС на 23,6 % на відміну від пацієнтів із ГХ без ЦД.

Одержані дані свідчать про відмінності у процесах формування атеросклеротичної бляшки залежно від дії різних факторів ризику. Можна припустити, що атеросклеротичне ураження сонних артерій у хворих на ГХ без ЦД

поетапно проходить стадії ендотеліальної дисфункції, потовщення КІМ, формування ліпідних плям і лише потім – утворення бляшок. Саме тому появу атерому у каротидному басейні можна було спостерігати лише після досягнення критичної товщини КІМ ($>698 \mu\text{m}$) у хворих на ГХ без ЦД. Це відрізняється від загальноприйнятого показника у практично здорових осіб, що свідчить про наявність атеросклеротичного ураження сонних артерій та, відповідно до міжнародних рекомендацій, дорівнює $900 \mu\text{m}$ [10].

Щодо особливостей каротидного атеросклерозу в сонних артеріях у хворих на ГХ і ЦД, то чіткої послідовності патологічних змін судинної стінки не спостерігали. До того ж у хворих на ГХ і ЦД каротидні атероми утворились при зіставних порогових значеннях товщини КІМ ($755 \mu\text{m}$ порівняно з $698 \mu\text{m}$, $p = 0,681$). Це асоціюється з наявністю атеросклеротичних бляшок у ЗагСА. Крім того, у хворих на ГХ і ЦД суттєво змінюються пружно-еластичні властивості вільної від бляшки стінки, а саме відбувається компенсаторне збільшення розтяжності ділянки стінки поруч із жорсткою покришкою самої бляшки. Аналогічні зміни судин описано в дослідженні Z. Wang et al. [11]. Автори вважають, що формування комплексу, який складається із жорсткої бляшки та еластичної прилеглої до бляшки стінки артерії, створює умови для ймовірного розриву атероми.

Не викликає жодних сумнівів, що наявність каротидного атеросклерозу (бляшок) у хворих на ГХ (незалежно від наявності супутнього ЦД) асоціюється з патологічним судинним ремоделюванням, що характеризується вірогідним збільшенням діаметра загальної сонної артерії. Точки розподілу в цьому разі є майже тотожними за даними, що встановлені для правої ЗагСА, – перевищення діаметра понад 7,94 мм у групі без ЦД та більше за 8,1 мм у групі з поєднанням ЦД і ГХ [7,8].

Зауважимо, що гіпертензія та порушення ліпідного обміну – не єдині чинники, які впливають на ризики виникнення та прогресування каротидного атеросклерозу. Так, у нещодавньому дослідженні із залученням 949 пацієнтів із ЦД 2 типу визначили основні фактори ризику формування атеросклеротичної бляшки сонних артерій: вік, співвідношення обводу талії та обводу стегон, тривалість діабету, гіпертензія, чоловіча стать, рівень ліпопротеїну А [12]. Однак сила впливу кожного з факторів та їхня сила при коморбідній патології залишаються остаточно не з'ясованими.

Дослідники продовжують вивчати каротидний атеросклероз, проте стратегії лікування все ще залежать передусім від ступеня стенозу, спричиненого бляшкою. Останніми роками більше уваги приділяють вивченню її компонентів для виявлення так званої «вразливої» бляшки. Зокрема оцінюють такі ознаки, як стан і товщина фіброзної оболонки, об'єм багатого на ліпіди некротичного ядра та наявність внутрішньобляшкового крововиливу. Це фактори ризику розриву бляшки, що можна вивчити за допомогою сучасних методів візуалізації [13].

Патогенез, що лежить в основі розвитку бляшок, залишається предметом дослідження і не є однаковим за морфологічною сутністю залежно від впливу різних факторів ризику. Так, процес ремоделювання артеріальної стінки може бути позитивним або негативним [14]. Позитивне ремоделювання характеризується розширенням стінки судини після збільшення об'єму бляшки з невеликим збільшенням калібру судини або взагалі без нього, а негативне ремоделювання характеризується зменшенням просвіту судини. Склад бляшки також може відрізнятися залежно від різних факторів, включаючи загальні фактори ризику атеросклерозу (діабет і гіпертонія).

За даними дослідження M. Porgu et al. [15], каротидні атероми у хворих на гіпертензію характеризується наявністю численних мононуклеарних клітин, а в пацієнтів із гіперхолестеринемією вони багаті пінистими та мононуклеарними клітинами, вкриті тоншою сполучнотканинною покривкою. Для атером курців характерна невелика кількість мононуклеарних і гігантських клітин, більша кількість сполучної тканини та більша частота тромбозу й кальцифікації. ЦД впливає на склад атеросклеротичної бляшки, діючи на запалення та відкладення кальцію. Атероми пацієнтів із цукровим діабетом (1, і 2 типу) характеризується наявністю великої кількості сполучної тканини, наявністю численних гігантських клітин і меншої кількості пінистих клітин, мають більше некротичне ядро та більше запальних клітин, більший рівень кальцифікації, схильність до негативного ремоделювання судини.

Наведені відмінності стосуються власне атеросклеротичної бляшки, а сила впливу таких факторів ризику, як гіпертонія та цукровий діабет на прилеглу до атероми стінку сонної артерії залишається предметом наукових дискусій. Атеросклероз має дві різні патофізіологічні особливості – морфологічні та функціональні зміни в

судинах. Атероз характеризується потовщенням та/або утворенням артеріальних бляшок артеріальної стінки, а склероз – підвищенням жорсткості або зниженням еластичності артерії [16]. Атероз і наступний стеноз артерії спричиняють ішемію в різних органах, що призводить до інфаркту міокарда, інсульту та захворювань периферичних артерій, які істотно впливають на якість і тривалість життя. Тому багато фундаментальних і клінічних досліджень зосереджені на атерозі. З іншого боку, склероз, функціональні зміни в артерії скоріше пов'язані з місцевою та/або системною гемодинамікою, тому менш імовірно, що його вивчатимуть у клінічному чи дослідному аспекті, як атероз. Відтак склеротичним змінам артерій приділяють менше уваги [17].

Атеросклероз, що характеризується накопиченням бляшок у стінці судини, змінює і структуру, і функцію артерій, збільшуючи жорсткість стінки судини. При цьому функціональне порушення артеріальної стінки може виникнути на ранній стадії атеросклеротичного процесу [18], а артеріальна жорсткість може бути процесом, незалежним від потовщення комплексу інтима-медіа [19]. Припускають також, що зміни еластичності сонної артерії ще більше зумовлюють розвиток та розрив бляшки [20].

У великих артеріях старіння характеризується зниженням синтезу колагену й еластину, збільшенням кінцевих продуктів глікації, що прогресує, та утворенням перехресних зв'язків між молекулами колагену. Еластичні волокна зазнають лізису й дезорганізації, відбувається їх заміщення колагеном та іншими компонентами матриксу. Ці події викликають втрату еластичності й індукують посилення жорсткості. Жорсткість артерій – процес старіння, що прогресує; його прискорюють вікові розлади, як-от гіпертонія, метаболічний синдром, діабет, атеросклероз і захворювання нирок, передбачаючи тим самим метаболічні фактори патогенезу.

Зауважимо, що ступінь артеріальної жорсткості може дуже відрізнятися в різних індивідуумів одного віку і навіть у різних тканинах однієї особи, що можна пояснити генетичними детермінантами та багатьма чинниками довкілля [21]. Потенційні механізми підвищення жорсткості артерій при ЦД полягають передусім у порушенні структури колагену, патологічному перехресному з'єднанні його молекул внаслідок відкладання продуктів глікації [22]. Крім того, резистентність до інсуліну призводить до ендотеліальної дисфункції через вплив на NO-опосередковане розширення судин. NO має судинорозширювальні, антитромбоцитарні, протизапальні й антиоксидантні властивості. В інсулінорезистентному стані активація NO-синтази порушується, а утворення супероксиду збільшується. Поєднання цих факторів врешті призводить до зниження біодоступності NO [23].

Наведені дані підтверджено в клінічних дослідженнях [24]. Так, показано не тільки міцний зв'язок цукрового діабету та підвищених показників артеріальної жорсткості, але й те, що належний контроль глікемії послаблює зв'язок між діабетом і жорсткістю артерій (ВШ 1,264,

95 % ДІ 0,950–1,681), а неконтрольований діабет асоціюється з найвищим ризиком артеріальної жорсткості (ВШ 1,629, 95 % ДІ 1,323–2,005).

Обмеження дослідження. Під час дослідження не аналізували тривалість і ступінь контролю діабету, і цим можна пояснити те, що не виявлено достовірних відмінностей за показниками жорсткості артерій без атеросклеротичних бляшок у групах пацієнтів із цукровим діабетом та без нього. Крім того, в окремих пацієнтів діагностовано переддіабет, який, за даними дослідників, також асоціюється з підвищенням жорсткості артерій [25,26].

Висновки

1. Каротидне ремоделювання у хворих на гіпертонічну хворобу характеризується вірогідним збільшенням діаметра загальних сонних артерій, який прогресивно зростає при появі атеросклеротичної бляшки та/або приєднанні цукрового діабету до артеріальної гіпертензії.

2. Особливістю ремоделювання сонних артерій у хворих на гіпертонічну хворобу та цукровий діабет на стадії наявності бляшки зі стенозом менше ніж 50 % слід вважати збереження розтяжності вільної від бляшки судинної стінки.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету «Діагностика, лікування та прогнозування перебігу гіпертонічної хвороби на тлі факторів додаткового кардіо-васкулярного ризику (надмірна вага, дисліппротеїнемія, субклінічний гіпотиреоз, порушення мозкового кровообігу)», держреєстрація № 0117U006959 (2017–2021).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0000-0001-9865-4325

Богун А. О., очна аспірантка каф. пропедевтики внутрішньої медицини, променевої діагностики та променевої терапії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0009-0001-6998-1551

Information about authors:

Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Bohun A. O., MD, Postgraduate student of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Gan W, Bragg F, Walters RG, Millwood IY, Lin K, Chen Y, et al. Genetic Predisposition to Type 2 Diabetes and Risk of Subclinical Atherosclerosis and Cardiovascular Diseases Among 160,000 Chinese Adults. *Diabetes*. 2019;68(11):2155-64. doi: 10.2337/db19-0224
- Wang Z, Yang T, Fu H. Prevalence of diabetes and hypertension and their interaction effects on cardio-cerebrovascular diseases: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2021;21(1):1224. doi: 10.1186/s12889-021-11122-y
- Staeff M, Ott C, Kannenkeril D, Striepe K, Schiffer M, Schmieder RE, et al. Determinants of arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus: a cross sectional analysis. *Sci Rep*. 2023;13(1):8944. doi: 10.1038/s41598-023-35589-4
- Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2018;36(10):1953-2041. doi: 10.1097/HJH.0000000000001940
- Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(3):233-70. doi: 10.1093/ehjci/jev014
- Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis*. 2012;34(4):290-6. doi: 10.1159/000343145
- Bohun AO. [Dependence of local carotid arterial stiffness on the presence of atherosclerotic plaque in the carotid basin in hypertensive patients]. *Zaporozhye medical journal*. 2024;26(1):11-8. Ukrainian. doi: 10.14739/2310-1210.2024.1.293501
- Kadoglou NPE, Moulakakis KG, Mantas G, Kakisis JD, Mylonas SN, Valsami G, Liapis CD. The association of arterial stiffness with significant carotid atherosclerosis and carotid plaque vulnerability. *Angiology*. 2022;73(7):668-74. doi: 10.1177/00033197211068936
- Cao Y, Zhang T. Clinical value of ultrasound in the evaluation of vascular function after carotid plaque formation. *Frontiers in Medical Science Research*. 2023;5(7):23-8. doi: 10.25236/FMSR.2023.050704
- Visseren FL, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Böck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2022;75(5):429. English, Spanish. doi: 10.1016/j.rec.2022.04.003
- Wang Z, Zhang M, Zhang Y, Shen H, Dai X, Chen L, et al. The study of carotid atherosclerosis plaque biomechanics patients with metabolic syndrome using multiple tracking techniques. *Heart*. 2012;98(Suppl 2):E26.1-E26. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302920a.57
- Chen J, Li W, Cao J, Lu Y, Wang C, Lu J. Risk factors for carotid plaque formation in type 2 diabetes mellitus. *J Transl Med*. 2024;22(1):18. doi: 10.1186/s12967-023-04836-7
- Porcu M, Mannelli L, Melis M, Suri JS, Gerosa C, Cerrone G, et al. Carotid plaque imaging profiling in subjects with risk factors (diabetes and hypertension). *Cardiovasc Diagn Ther*. 2020;10(4):1005-18. doi: 10.21037/cdt.2020.01.13
- Saba L, Yuan C, Hatsukami TS, Balu N, Qiao Y, DeMarco JK, et al. Carotid Artery Wall Imaging: Perspective and Guidelines from the ASNR Vessel Wall Imaging Study Group and Expert Consensus Recommendations of the American Society of Neuroradiology. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018;39(2):E9-E31. doi: 10.3174/ajnr.A5488
- Porcu M, Mannelli L, Melis M, Suri JS, Gerosa C, Cerrone G, et al. Carotid plaque imaging profiling in subjects with risk factors (diabetes and hypertension). *Cardiovasc Diagn Ther*. 2020;10(4):1005-18. doi: 10.21037/cdt.2020.01.13
- O'Rourke M. Mechanical principles in arterial disease. *Hypertension*. 1995;26(1):2-9. doi: 10.1161/01.hyp.26.1.2
- Morioka T, Mori K, Emoto M. Is Stiffness Parameter β Useful for the Evaluation of Atherosclerosis?~ Its Clinical Implications, Limitations, and Future Perspectives ~. *J Atheroscler Thromb*. 2021;28(5):435-53. doi: 10.5551/jat.RV17047
- Charvat J, Chlumsky J, Zakovicova E, Kvapil M. Common carotid artery intima-media thickness is not increased but distensibility is reduced in normotensive patients with type 2 diabetes com-

- pared with control subjects. *J Int Med Res.* 2010;38(3):860-9. doi: [10.1177/147323001003800312](https://doi.org/10.1177/147323001003800312)
19. Riley WA, Evans GW, Sharrett AR, Burke GL, Barnes RW. Variation of common carotid artery elasticity with intimal-medial thickness: the ARIC Study. *Atherosclerosis Risk in Communities. Ultrasound Med Biol.* 1997;23(2):157-64. doi: [10.1016/s0301-5629\(96\)00211-6](https://doi.org/10.1016/s0301-5629(96)00211-6)
 20. Arroyo LH, Lee RT. Mechanisms of plaque rupture: mechanical and biologic interactions. *Cardiovasc Res.* 1999;41(2):369-75. doi: [v10.1016/s0008-6363\(98\)00308-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(98)00308-3)
 21. Sell DR, Monnier VM. Molecular basis of arterial stiffening: role of glycation – a mini-review. *Gerontology.* 2012;58(3):227-37. doi: [10.1159/000334668](https://doi.org/10.1159/000334668)
 22. Wang Y, Zeinali-Davarani S, Davis EC, Zhang Y. Effect of glucose on the biomechanical function of arterial elastin. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;49:244-54. doi: [10.1016/j.jmbbm.2015.04.025](https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.04.025)
 23. Prenner SB, Chirinos JA. Arterial stiffness in diabetes mellitus. *Atherosclerosis.* 2015;238(2):370-9. doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.023](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.023)
 24. Cui C, Zhang T, Qi Y, Chu J, Xu H, Sun C, et al. Diabetes, glycemic control and arterial stiffness: a real-world cohort study in the context of predictive, preventive, and personalized medicine. *EPMA J.* 2023;14(4):663-72. doi: [10.1007/s13167-023-00347-z](https://doi.org/10.1007/s13167-023-00347-z)
 25. Yang X, Chen J, Pan A, Wu JH, Zhao F, Xie Y, et al. Association between Higher Blood Pressure and Risk of Diabetes Mellitus in Middle-Aged and Elderly Chinese Adults. *Diabetes Metab J.* 2020;44(3):436-45. doi: [10.4093/dmj.2019.0081](https://doi.org/10.4093/dmj.2019.0081)
 26. Tian X, Zuo Y, Chen S, Zhang Y, Zhang X, Xu Q, et al. Hypertension, Arterial Stiffness, and Diabetes: a Prospective Cohort Study. *Hypertension.* 2022;79(7):1487-96. doi: [10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19256](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19256)



Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *Myrtus communis* L. (a review)

O. Ye. Matsehorova¹*, B. C. D., V. M. Odyntsova¹ A. E. F.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical 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 number of medicinal products based on biologically active substances (BAS) of plant origin is increasing every year. Scientists are exploring non-official plant raw materials used in non-traditional medicine to expand the raw material base for creating new phytopreparations. Among numerous plants, common myrtle (*Myrtus communis* L.), which is a fairly common indoor plant, is recognized as a valuable source of BAS.

The aim of the work is to analyze and summarize new literature data on the botanical characteristics, chemical composition, pharmacological and toxicological properties of *Myrtus communis* L.

Materials and methods. Data were collected from several legitimate databases and services such as PubMed, Medline, Scopus, Google Scholar, ResearchGate using the key terms “*Myrtus communis* L.”, “botanical characteristics”, “pharmacological studies”, “phytochemical studies” in each database data Relevant and related data were filtered as appropriate if deemed relevant to the topic of interest. Time frames have also been adjusted to provide up-to-date information.

Results. *Myrtus communis* L., commonly known as common myrtle, is a widely recognized medicinal plant in the Mediterranean region. Various parts of this plant, including the leaves, fruits, and flowers, have been used in traditional medicine for treating a wide range of ailments. The pharmacological properties of common myrtle are attributed to the presence of essential oils and phenolic compounds, and these properties include antimicrobial, antiviral, antidiabetic, antispasmodic, vasodilator, antiulcer, antioxidant, antitumor, and anti-inflammatory effects. This article offers an overview of the botanical characteristics and chemical composition of different parts of common myrtle, and it presents a literature review of pharmacological studies that provide evidence for the plant's medicinal properties.

Conclusions. Common myrtle is a promising plant for further pharmacognostic research with the aim of expanding the raw material base, using the method of clonal micropropagation and creating new phytopreparations based on it.

Keywords: *Myrtus communis* L., botanical characteristics, pharmacological studies, phytochemical studies.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):70-78

Перспективи створення нових фітохімічних лікарських засобів на основі *Myrtus communis* L. (огляд)

О. Є. Мацегорова, В. М. Одинцова

Щорічно зростає кількість лікарських засобів на основі біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження. Увагу науковців привертає неофіційна рослинна сировина, яку використовують у нетрадиційній медицині для розширення сировинної бази для створення нових фітопрепаратів. Серед численних рослин цінним джерелом БАР визнано мирт звичайний (*Myrtus communis* L.), який є досить поширеною кімнатною рослиною.

Мета роботи – аналіз та узагальнення нових даних фахової літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічних і токсикологічних властивостей *Myrtus communis* L.

Матеріали і методи. Дані були зібрані за кожною з офіційних баз даних і служб: PubMed, Medline, Scopus, Google Scholar, ResearchGate. Пошук здійснили за ключовими словами: «*Myrtus communis* L.», «ботанічна характеристика», «фармакологічні дослідження», «фітохімічні дослідження». Релевантні та пов'язані дані брали до аналізу, якщо вони відповідали тематиці дослідження. Часові рамки скориговані для отримання актуальної інформації.

Результати. *Myrtus communis* L. (мирт звичайний) – один із поширених лікарських видів середземноморського регіону. Різні частини цієї рослини використовують для лікування багатьох захворювань, що доведено численними фармакологічними дослідженнями. Вміст у листках, плодах і квітах ефірних олій і фенольних сполук зумовлює фармакологічні властивості мирту: антимікробні, протівірусні, протидіабетичні, спазмолітичні, судинорозширювальні, противиразкові, антиоксидантні, протипухлинні та протизапальні.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/290860>

UDC 615.322:582.776.2:615.2/.3.015.4]-027.31

DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.290860

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):70-78

Keywords: *Myrtus communis* L., botanical characteristics, pharmacological studies, phytochemical studies.

*E-mail: olya.matsegorova@gmail.com

Received: 15.11.2023 // Revised: 29.11.2023 // Accepted: 15.12.2023

У статті проаналізовано й узагальнено інформацію щодо ботанічної характеристики, хімічного складу різних частин мирту звичайного, здійснили огляд фахової літератури, де наведено результати фармакологічних досліджень, які підтверджують лікувальні властивості цієї рослини.

Висновки. Мирт звичайний є перспективною рослиною для наступних фармакогностичних досліджень з метою розширення сировинової бази, використання методу клонального мікророзмноження та створення нових фітопрепаратів на його основі.

Ключові слова: *Myrtus communis* L., ботанічна характеристика, фармакологічні дослідження, фітохімічні дослідження.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 70-78

When creating new medicinal products, in addition to their effectiveness, more and more attention is paid to the safety of the products. Researching the properties of herbal medicines is an urgent task for scientists because they can successfully compete with synthetic drugs in terms of their effectiveness while being low-toxic, safe, mild in their action, and less allergenic.

Myrtus communis L. (common myrtle) is one of the popular medicinal species of the Mediterranean region, the raw materials of which are used to treat various diseases. Myrtle, in addition to its use in traditional medicine, is widely used in the perfume, food, cosmetic, spice, and pharmaceutical industries [1,2,3,4]. Different parts of common myrtle contain essential oils, phenolic acids, flavonoids (quercetin, catechin, myricetin), tannins, anthocyanins, pigments, and fatty acids, which determine its pharmacological properties. It has long been used against colds [5,6,7] and coughs [8,9], for the treatment of digestive problems [10,11], skin diseases [12,13,14], for the treatment of obesity [15,16], genitourinary system [17,18,19], hypercholesterolemia [16] and diabetes [20]. Myrtle is also used in dentistry for gingivitis and stomatitis [21,22,23,24]. This proves the perspective of the pharmacognostic study of common myrtle with the aim of standardizing plant raw materials as a source of biologically active compounds for obtaining phytosubstances based on them.

Aim

The purpose of the work is to analyze review and consolidate the latest literature concerning the botanical characteristics, chemical composition, and pharmacological properties of common myrtle. This comprehensive analysis aims to identify the potential applications of myrtle as medicinal plant material for the treatment of various diseases. The study will contribute to a deeper understanding of Myrtle's therapeutic potential and its role in developing new natural remedies.

Materials and methods

Data were collected from several legitimate databases and services such as PubMed, Medline, Scopus, Google Scholar, ResearchGate using the key terms “*Myrtus communis* L.”, “botanical characteristics”, “pharmacological studies”, “phytochemical studies” in each database data Relevant and related data were filtered as appropriate if deemed relevant to the topic of interest. Time frames have also been adjusted to provide up-to-date information.

Botanical characteristics of *Myrtus communis* L. Myrtaceae (*Myrtaceae*) is a diverse family of woody flowering plants,

encompassing approximately 5,500 species. Common myrtle, scientifically known as *Myrtus communis* L., is a particularly valuable species among essential oil medicinal plants within the Myrtaceae family. This plant is of great interest to scientists worldwide, with efforts focused on its potential cultivation as a source of raw materials for creating new herbal preparations. Myrtle is found growing in various regions across the globe and is both cultivated and wild [18]. Being widespread throughout the Mediterranean region, the species is one of the most important evergreen shrubs of the Mediterranean maquis. In Italy, it grows along the coast and on inland hills and is abundant on the islands, where it is one of the most characteristic species. In Portugal, myrtle grows wild mainly in the central and southern parts of the country. It occurs in coastal and forest areas, on the interior hills of northern Tunisia [25,26,27].

Myrtus communis L. is an evergreen perennial shrub or small tree that typically reaches heights of 1.8 to 3 meters with small leaves and deep fissures in the bark. The stem of the plant is erect, branched, has glossy dark green leaves, glabrous, opposite, paired or twisted, in shape from ovoid to lanceolate [28], with a rigid structure, entire, pointed, 2.5–3.8 cm long, they very fragrant due to the presence of numerous secretory receptacles. The flowers are white or pink [29], on thin peduncles, medium in size, 2 cm in diameter, hard with yellow anthers. The petals are white with glands and have a slightly forked edge, often covered with fine hairs.

The fruit of myrtle is a berry, typically measuring between 0.7 to 1.2 centimeters in diameter. It has a rounded or egg-elliptic shape with an inflated central part and retains remnants of a 4–5-parted cup on the outer part. Myrtle berries come in two primary colors: white and dark blue. White berries are rarer and are associated with unique leaves. From an ecological perspective, this species is characterized by low pollen production, limited seed dispersion, and relatively low adaptation to its environment, which may explain its scarcity in certain areas [30]. The unripe berries start as pale green, turn red as they mature, and eventually become dark indigo when fully ripe. While immature berries tend to be bitter, ripe ones are sweet [2,25,26,27].

Phytochemical studies. The chemical composition of the different parts of common myrtle studied contains essential oils, phenolic acids, flavonoids (quercetin, catechin, myricetin), tannins, anthocyanins, pigments, and fatty acids.

Myrtle essential oil consists mainly of monoterpene hydrocarbons, oxygenated mono- and sesquiterpenes, simple and complex esters, sesquiterpene and aliphatic hydrocarbons, alcohols, and phenols. These components are distributed in

varying ratios depending on the geographical area (temperature, soil quality, day length), the time of collection, and the species' genotype [31]. Research conducted by Iranian scientists Donya Shahbazyan and others confirm that environmental conditions, genetic factors, and plant ontology are among the main factors determining the chemical composition of myrtle essential oil. Current studies have shown that the role of genetic factors was more prominent than the role of environmental conditions in causing the differences between the selected samples. Although 23 compounds were identified, cluster analysis using the median linkage method revealed four distinct groups in the dendrogram, including chemotype I: caryophyllene oxide / germacrene D / α -humulene / methyleugenol; II: α -pinene / *n*-cymol / α -humulene and (*E*)- β -caryophyllene; III: α -pinene / 1,8-cineole and linalool; IV: linalyl acetate / γ -terpinene / 1,8-cineole / limonene according to their main essential oil components [30]. The yield of oil in dry leaves in different phenological phases in March and October was different, but the main compounds were the same, even if they had different relative percentages. 1,8-cineole, linalool, α -pinene and α -terpineol [3,16,32,33].

A population consisting of 52 genotypes of *Myrtus communis* L., selected as part of a domestication program and grown in the same collection field in Oristano, was subjected to GC/MS analysis to assess the quantitative and qualitative composition of essential oils in the leaves. The chemical composition of the essential oils proved to be quite diverse, with the number of compounds ranging from 31 to 78 depending on the variety. In total, 118 compounds were identified in different genotypes. However, α -pinene, limonene, 1,8-cineole, α -terpineol, and linalool consistently appeared as the main components, with minor variations in their quantitative ratios among the samples [28].

Analysis of the essential oil from the aerial parts of *M. communis* by GC/MS revealed that the main compounds obtained were myrtenyl acetate (33.67 %), linalool (19.77 %), 1,8-cineole (10.65 %) and limonene (8.96 %) [34,35].

When it comes to fruits, samples collected in July (at the beginning of fruiting) and October (at the onset of ripening) were compared. Oil yields were similar, measuring 0.59 % and 0.48 %, respectively. The most prevalent compounds (with relative percentages above 5.0 %) included the following:

- In July: α -pinene (11.9 %), 3-carene (6.5 %), *o*-cymol (7.6 %), 1,8-cineole (6.4 %), γ -terpinene (5.1 %), α -terpinolene (5.2 %), linalool (8.8 %), and α -terpineol (6.1 %);

- In October: α -pinene (21.4 %), *o*-cymene (7.9 %), limonene (6.8 %), 1,8-cineole (12.2 %), and linalool (9.4 %) [32].

Another study examined 47 different candidate clones, including only five clones of *Leucocarpa varietas* and most of *Melanocarpa varietas*. The yield of essential oil from the berries varied greatly. GC-MS analysis of essential oils revealed the presence of 92 compounds. The main components were: geranyl acetate for 13 genotypes; 1,8-cineole for 7 genotypes; α -terpinyl acetate for 4 genotypes; linalool, α -humulene, trans-caryophyllene oxide, and β -caryophyllene for 3 genotypes; limonene for 2 genotypes; α -terpineol,

bornyl acetate and humulene epoxide II respectively for 1 genotype each. β -caryophyllene was present in all genotypes, and methyleugenol – in 40 selections. Compounds present in only one genotype in small amounts were 2-methylbutanoic acid, 2-methylpropyl ether, *n*-mentha-1(7),8-diene, linalyl acetate, β -bisabolene, ledol, and isoleptospermone. Among the main components of myrtle essential oil, geranyl acetate was the compound with the highest relative abundance in the entire population of candidate clones (in 35 genotypes) [36].

A phytochemical study of the essential oil of *Myrtus communis* flowers showed that the main compounds were: α -pinene, 1,8-cineole, eugenol, linalool, geranyl acetate and α -terpineol [5].

So, as we can see, 1,8-cineole, linalool, α -pinene are the main components of the essential oil, which are present in different quantities in the raw materials of different parts of *Myrtus communis* L., regardless of the geographical area (temperature, soil quality, length of day), collection time and species genotype.

The leaves and berries of *Myrtus communis* L. are also rich in phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids, and flavanols. The extraction of phenolic compounds has several main points, such as the choice of the phenological stage of the plant, the choice of solvent, the method of extraction and purification, as well as the post-harvest technological processes, mainly the drying process. The total content of phenols, flavonoids, and proanthocyanidins in various extracts was significantly influenced by the drying methodology. For the analysis of the phenolic fractions of the extracts, the method of high-performance liquid chromatography was used in combination with high-resolution mass spectrometric detection. The total phenol content in the extracts increased from 39.6 GAE/g in air-dried leaves to 55.2 GAE/g after drying in a microwave oven and to 41.1 GAE/g in dryer-dried leaves at 70 °C. However, drying at temperatures of 100 and 120 °C reduced the total phenol content to 30.8 and 25.7 GAE/g, respectively [37]. The extraction of phenolic compounds from the pericarp of *Myrtus communis* was carried out using ultrasound. The yield of total phenolic compounds was more affected by ethanol concentration, exposure time, liquid solvent/solid ratio, and amplitude, and the optimal parameter conditions established by the response surface methodology model were 70 % (v/v), 7.5 min, and 30 %, respectively [38].

Most of the phenolic compounds originate from the phenylpropanoid pathway, where phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activates the first step. This 2020 study aimed to understand how PAL activity in myrtle fruits and leaves influences certain phenolic compounds during the transition from flowering to full fruit ripening. The study found that PAL activity remained relatively constant in leaves but varied in berries. Specifically, PAL activity was higher in “Giovanni” berries compared to “Grazia” and increased from the time of berry color change to full ripening. This suggests that PAL plays a significant role in the phenolic compound biosynthesis of myrtle berries during the ripening process. PAL activity was fairly constant in leaves and varied in berries: greater

in “Giovanni” berries than in “Grazia” and increased from berry color change to full ripening. In berries, a positive correlation was found between PAL and flavonoids, as well as between PAL and anthocyanins, and a negative correlation between PAL and total polyphenols. Regarding the quantitative content of phenolic compounds detected in the study, during ripening, the variety Gio “Giovanni” vanna showed a lower content of total phenolic compounds than the variety Grazia (37 and 46 mg gallic acid equivalent GAE/g DM (dry matter) for “Giovanni” and Grazia, respectively), as well as a lower content of total tannins (0.33 mg catechin equivalent CE/g DM for “Giovanni” and 2.73 mg CE/g DM for Grazia) [29]. The results of a study conducted in 2021 by the same researchers showed that the differences in color between the dark blue variety “Giovanni” and the white “Gracia” may be the result of over-regulation of some structural genes in dark blue fruits, in particular the LDOX and UFGT genes. Furthermore, this first molecular approach showed significant positive correlations between general and specific anthocyanin genes and total anthocyanin content, while no correlations were found with total phenolic content [39].

Quantitative analysis of the main phenolic compounds found in myrtle fruits showed that hydrolyzed tannins accounted for more than 90 % of the seed samples and dominated the phenolic profiles of both flesh and seed. Phenolic acids were detected in lower amounts, characterized only by the presence of gallic acid (52.21 mg/kg dry weight DW for pulp and 137.02 for seeds). Among the flavanols detected in fresh myrtle berries, quercetin-3-O-galactoside and, to a lesser extent, quercetin-3-O-rhamnoside were the only flavanols. As expected, anthocyanins were detected only in the pulp extract with malvidin 3-O-glucoside in the largest amount (41.98 mg/kg) [18,40]. In another study, no anthocyanins were found at all, probably because these compounds are completely extracted during the water-alcohol infusion of myrtle berries during liqueur production. In addition, the literature notes the low stability of these compounds, which easily decompose under the influence of light, high temperature, and air [41].

It was also found that myrtle berries, and in particular the seeds, contain a large number of valuable ellagitannins eugeniflorin D2 and enothein B [11].

The liquid chromatography analysis of *Myrtus communis* L. leaf extract revealed the presence of seventeen components, which are as follows: gallic acid, quercetin, p-coumaric acid, hesperidin, amentoflavone, luteolin, quercetin-3-O-glucoside, quercetin-3-O-glucuronic acid, isorhamnetin-7-O-pentose, luteolin-7-O-glucoside, kaempferol-3-O-glucuronic acid, kaempferol-3-O-pentose, kaempferol-3-O-hexose, deoxyhexose, catechin gallate, procyanidin, kaempferol and naringin. Quercetin-3-O-glucoside, isorhamnetin-7-O-pentose, and luteolin-7-O-glucoside were the most abundant components in the extract [42]. In another study, the main polyphenolic components in myrtle leaf extract were myricetin-3-O-rhamnose (36.68 %), myricetin-3-O-galactose (33.20 %), myricetin (14.48 %) and 5-O-haloylequinic acid (7.96 %) [15]. As already mentioned, the different composi-

tions of components can be associated with different phenological stages of the plant, drying method, choice of solvent, extraction, and purification method.

Pharmacological research. Considering the rich chemical composition of myrtle raw materials, pharmacological studies were analyzed, which showed that *Myrtus communis* has a wide range of pharmacological activity, including antimicrobial, antifungal, antiulcer, gastroprotective, antidiabetic, anti-inflammatory, antihypertensive, antioxidant, antilipidemic, antithrombotic, antimutagenic.

Antimicrobial and antifungal activity. The antibacterial, antifungal and anti-inflammatory effects of myrtle have been proven by many studies. In their research, Italian scientists evaluated the antibacterial, cytotoxic and antiacetylcholinesterase properties of *Myrtus communis* leaf essential oil and its main components. All essential oil components were active against *P. carotovorum*, except myrtenyl acetate, which showed only 2.08 % biofilm inhibitory activity. In contrast, four major components (myrtenyl acetate (29.8 %), 1,8-cineole (21.9 %), α -pinene (14.7 %) and linalool (9.1 %)) resulted in blocking or limitation of *P. aeruginosa* and *S. aureus* biofilm formation [43].

Myrtle essential oil showed a powerful antibacterial effect against *L. monocytogenes* *in vitro* assays [3,4].

The results of a study conducted in Iran demonstrated the exceptional effect of the essential oil of *M. communis* leaves against *Toxoplasma* in mice infected with *Toxoplasma gondii* [44].

Nowadays, the combination of molecules affects their biological effects, and interesting results can be obtained from the interaction of different components. The effectiveness of combinations of essential oils against various bacteria was considered. A ternary mixture consisting of 17.1 %, 39.6 %, and 43.1 % of *M. communis*, *A. herba-alba*, and *T. serpyllum*, respectively, showed optimal inhibitory activity against *B. subtilis* [35].

Five different combinations (*Cupressus sempervirens* (cypress) combined with *Melaleuca alternifolia* (tea tree), *Hyssopus officinalis* (hyssop) combined with *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Origanum marjorana* (marjoram) combined with *M. alternifolia*, *Myrtus communis* (myrtle) in combination with *M. alternifolia* and *Origanum vulgare* (motherwort) in combination with *M. alternifolia*) were the most promising in the treatment of respiratory diseases, showing antimicrobial activity, reduced cytotoxicity and improved anti-inflammatory effects [8]. Another study evaluated the antibacterial, antibiofilm, and antiviral effects of combinations of different concentrations of *Rosmarinus officinalis* and *Myrtus communis* essential oils against the opportunistic pathogen *Staphylococcus aureus* [45].

The antimicrobial activity of essential oils obtained from Tunisian *Myrtus communis* flowers was assessed using agar diffusion and broth microdilution methods against a panel of pathogenic bacteria, which included six different gram-positive strains (such as *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Staphylococcus epidermidis*), as well as three gram-negative

bacteria (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella enterica*). Myrtle essential oil effectively inhibited the growth of all tested bacterial strains at non-cytotoxic concentrations. It exhibited stronger antimicrobial activity against the Gram-positive bacteria, and it was bactericidal against *L. monocytogenes* [31].

In the quest for new antimicrobial agents targeting Staphylococcus species, bioactive fractions of *Myrtus communis* L. were investigated. Phytochemical analysis led to the isolation and characterization of four alkyl phloroglucinol glycosides. Among these compounds, three were identified as halomyrtucummulones G–H and myrtucummulonoside, marking their first-time isolation and description. The results revealed that halomirtucummulone G (1) exhibited selective antimicrobial activity against both *S. aureus* strains at concentrations as low as 16 µg/mL. In contrast, halomirtucummulone D (3) demonstrated the most effective growth inhibition, with an IC₅₀ of 64 µg/mL [46]. In another study, the antibacterial and anti-candidal activity of an aqueous extract of myrtle was examined against *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. The study found that the highest antimicrobial activity was observed against *E. coli* [47]. The impact of the ethanolic extract of common myrtle leaves on ten bacterial strains was also investigated. The results of the study confirm that gram-positive bacteria, including *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Mycobacterium smegmatis mc*, and *S. aureus*, were sensitive to the extract. In contrast, the gram-negative strains showed resistance to the extract. It was observed that the inhibition of growth was associated with cell wall damage. Cells treated with the extract exhibited sensitivity to cell wall-targeting antibiotics and displayed morphological defects consistent with cell wall damage [2].

A study conducted in Iran aimed to determine the inhibitory effect of different fractions isolated from a standardized extract of *Myrtus communis* L. against both nystatin-susceptible and nystatin-resistant *Candida albicans*, which were isolated from HIV-infected patients. The total extract and fractions, including petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and methanol, were prepared using ultrasound treatment. The results of the study indicated that myrtle fractions exhibited a more potent anti-candidal effect compared to the total extract [48]. The berries and seeds of *M. communis* L. contain a component called enotein B, which can inhibit the growth of various *Candida* species (including *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida glabrata*) that are sensitive or resistant to fluconazole and are commonly found in the gastrointestinal tract. Additionally, enotein B displayed growth inhibitory properties against *H. pylori* [11]. A myrtle solution was found to be effective in treating dandruff [13].

Both aqueous and methanol extracts of *M. communis* leaves exhibited significant antibacterial activity against periodontal pathogens [21]. The combination of methanol extracts from *Myrtus communis* and *Eucalyptus galbie* demonstrated antibacterial effects against *Enterococcus faecalis* [23]. The water extract of *Myrtus communis* displayed antibacterial activity against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyro-*

monas gingivalis, and *Prevotella intermedia*. Similarly, the methanolic extract exhibited antibacterial effects against *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, and *P. intermedia* [22]. A toothpaste was developed using extracts from the leaves of *Artemisia dracuncululus*, *Satureja khuzestanica* (Jamzad), and *Myrtus communis* (Linn), mixed with sterile distilled water. This product was tested against five microorganisms, including *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, and *Candida albicans*, using the agar diffusion method. The toothpaste demonstrated a strong inhibitory effect against Gram-positive bacteria and *C. albicans* [49].

Myrtle lotion is as effective as clindamycin in the treatment of mild to moderate acne caused by *P. acnes* [14].

Leishmania major is a parasite that causes skin lesions and wounds in humans. A study conducted on mice showed that the group receiving the ethanolic extract of common myrtle had the lowest parasite load. Notably, both aqueous and ethanol extracts were less toxic to normal macrophages compared to glucantime. Additionally, the option for oral administration, as opposed to injection, is another advantage of myrtle over glucantime. Therefore, this treatment can serve as an alternative approach for cutaneous leishmaniasis [12]. Furthermore, the ethanolic extract of *M. communis* exhibited high scolicidal activity against *Echinococcus granulosus* in an *in vitro* model [50].

Antihypertensive activity. *Myrtus communis* extract can improve cognitive dysfunctions in hypertension due to its antihypertensive, anti-inflammatory, and anticholinesterase activity [51].

Anti-ulcer and gastroprotective activity. A study was conducted to assess the gastroprotective effect of microencapsulated myrtle essential oil against acute gastric lesions induced by a mixture of ethanol and hydrogen chloride in rats. The results suggest that microencapsulated myrtle essential oil has the potential to be used in the treatment of acute stomach ulcers. Treatment of animals with microencapsulated essential oil of myrtle successfully inhibited oxidative damage and restored the integrity of the antioxidant system in the intestinal mucosa, demonstrating its protective properties [52].

Myrtle extract, administered at a dosage of 100 mg/kg, has shown a positive impact on rat health. It led to an increase in the number of lactobacilli and bifidobacteria colonies when compared to the control group. Additionally, it induced alterations in glycolytic enzymatic activity and brought about a minor change in tissue antioxidant activity [15].

Enothein B, found in the berries and seeds of *M. communis* L., demonstrates anti-inflammatory properties on human stomach epithelial cells, suggesting its potential therapeutic use in gastritis treatment [11].

Hepatoprotective activity. The study assessed the protective effect of *Myrtus communis* essential oil against CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. CCl₄ administration led to hepatotoxicity, indicated by increased lipid peroxidation and protein carbonyl levels, as well as decreased antioxidant markers in liver tissue. The results suggest that *M. communis* essential oil may be effective in preventing hepatotoxicity complications [10].

Losing weight. Intra-gastric administration of laurel and myrtle essential oil to rats for two weeks results in weight loss [16]. Interestingly, the effects of myrtle extract on weight can vary with dosage: a dose of 100 mg/kg of myrtle leaf extract causes weight loss, while a dose of 50 mg/kg can lead to weight gain [15].

Anti-inflammatory and wound-healing activity. Extracts from the pulp and seeds of *M. communis* L., produced industrially for liquor production, contain polyphenols that inhibit the production of reactive oxygen species, protecting cells from oxidative stress-induced damage. These extracts also modulate the expression of cytochromes P450, potentially preventing chronic inflammation [40]. Notably, a polyphenol-enriched fraction displayed strong anti-inflammatory activity, prompting a study on mice to assess its wound-healing potential. Topical application of ointments (at 0.1 % and 0.05 % concentrations) containing this myrtle fraction demonstrated potent wound-healing effects [42].

Myrtucommuacetalon-1, an isolated compound from *Myrtus communis* L., displays robust anti-inflammatory activity by reducing the production of superoxide, hydrogen peroxide, and nitric oxide in macrophages [53].

Considering the anti-inflammatory, antibacterial, and antioxidant effects of *Myrtus communis* essential oil, it can be used to treat sepsis [54].

Antioxidant activity. Natural compounds found in myrtle exhibit a significant antioxidant effect. Pretreatment with myrtle extracts safeguards cells from premature aging by regulating the cell cycle and inducing telomerase expression. This suggests the potential utilization of these natural compounds in disease prevention and treatment, the delay of premature aging, and the preservation of tissue functions [1].

A study by Hamza Mechchate et al. demonstrated the antioxidant role of the polyphenol-enriched fraction from *Myrtus communis* using three different methods (TAC, FRAP, and β -carotene bleaching), confirming its action as a free radical scavenger or reducer [42]. The addition of various extracts from *M. communis* L. leaves enhanced the oxidative stability of soybean oil. Therefore, the use of *M. communis* L. extract may present a promising approach to prevent lipid oxidation in food [37].

Myrtus communis berry seed extracts, obtained during the production of myrtle liqueur, exhibited a higher antioxidant potential compared to pericarp extracts [41].

Studies conducted by Turkish scientists demonstrated the effect of *M. communis* extract on the antioxidant status of the eye lens. It can reduce oxidative stress in the lenses of obese rats induced by a high-fat diet by increasing boron levels [55].

It was established that hydrolyzed tannins contained in the extract of *M. communis* serve as both reducing agents and stabilizers [56].

Studies conducted to determine the ideal combination of six essential oils from different plants (motherwort compact, marjoram motherwort, common thyme, spearmint, common myrtle and white wormwood) in terms of antioxidant activity proved that none of the mixtures presented in the study has a

better antioxidant effect, than one *M. communis* oil, where the activity reached 76.95 % [34].

Antilipidemic and antithrombotic activity. Intra-gastric administration of laurel and myrtle essential oil to rats for two weeks reduces glycolytic activity, lipid parameters (cholesterol, triglycerides, low-density lipoprotein cholesterol, and very low-density lipoprotein cholesterol), and indicators of atherogenicity, which leads to protection of the cardiovascular system [16].

Anticancer activity. The fraction from *Myrtus communis*, enriched with polyphenols, can inhibit the proliferation of cancer cell lines without affecting non-cancerous ones [42]. Another study also found that the essential oil of the leaves of *Myrtus communis* subsp. *tarentina* (L.) can reduce the viability of castration-resistant prostate cancer cells, activate the process of apoptosis, and reduce the migration ability of these cancer cells [33].

The compound myrtucommuacetalon-1, isolated from *Myrtus communis* L., showed moderate anticancer activity against lung cancer cells *in vitro* [53].

Results

Myrtus communis L. (myrtle) is one of the common medicinal species of the Mediterranean region of the *Myrtaceae* family. This evergreen perennial shrub contains essential oils, phenolic acids, flavonoids, alkaloids, as well as simple phenols, lignans, carotenoids, vitamins, and terpenoids. The leaves are rich in tannins, coumarins, haloyl glucosides, caffeic, gallic, and ellagic acids, and various terpenoid compounds [15].

In the essential oil of the different parts studied, α -pinene, limonene, 1,8-cineole, α -terpineol, and linalool were consistently the main components, with slight variations among samples. Myrtle essential oil, as demonstrated in numerous studies, exhibits potent antibacterial activity against both gram-positive and gram-negative bacteria, with a particularly strong antimicrobial effect against gram-positive bacteria. Thanks to its anti-inflammatory and antioxidant properties, myrtle essential oil has the potential for use in treating acute stomach ulcers, countering liver intoxication, protecting the cardiovascular system, and aiding in weight loss. The main polyphenols in *Myrtus communis*, varying based on the plant parts studied, phenological stage, drying method, choice of solvent, extraction, and purification methods, include quercetin-3-*O*-glucoside, isorhamnetin-7-*O*-pentose, luteolin 7-*O*-glucoside, myricetin-3-*O*-rhamnoside, myricetin-3-*O*-gallac, myricetin, and 5-*O*-haloylquinic acid. Both aqueous and methanol extracts of *M. communis* demonstrate strong antibacterial activity against numerous gram-positive microorganisms, as well as sensitive and fluconazole-resistant *Candida* species, including *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida glabrata*.

This versatility makes myrtle extracts suitable for treating colds, flu, ENT diseases, periodontal issues, gastrointestinal disorders, skin conditions, and genitourinary problems. Furthermore, myrtle extract polyphenols display anti-inflammatory and antioxidant properties, and they exhibit potential for inhibiting the proliferation of cancer cell lines, suggesting

promise in anticancer therapy. However, additional research is required to address this potential fully.

Over the past three decades, scientists from various countries have been engaged in myrtle culture research, investigating the influence of macronutrients, growth regulators, and light on the multiplication and rhizogenesis of regenerating plants [57]. Their work has revealed that plants propagated through *in vitro* microclonal propagation are genetically identical to the donor plant, healthier, and possess an optimal chemical composition. Consequently, they offer significant advantages compared to those grown in natural conditions [57].

Conclusions

1. An extensive review of recent literature data has revealed that *Myrtus communis* L. contains essential oils, phenolic acids, flavonoids (such as quercetin, catechin, and myricetin), tannins, anthocyanins, pigments, and fatty acids in its chemical composition. These components grant this plant a diverse range of pharmacological properties, including antibacterial, antifungal, antiulcer, gastroprotective, antidiabetic, anti-inflammatory, antihypertensive, antioxidant, antilipidemic, antithrombotic, and antimutagenic effects. The quality of the plant raw materials can be influenced by external conditions, leading to the potential use of *in vitro* plant cultures for the production of medicinal products.

2. The *in vitro* cultivation of myrtle for obtaining planting material holds promise as it allows for controlled plant growth conditions, resulting in healthy seedlings and greater precision and reliability in research outcomes.

3. Additionally, it is intriguing to determine the quantitative and qualitative composition of biologically active substances in the plant raw material obtained from common myrtle under regenerative plant growing conditions in open ground, as this composition may differ from that of raw material obtained from traditionally vegetatively reproduced plants.

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

Information about authors:

Matsehorova O. Ye., Postgraduate Student of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
ORCID ID: 0009-0002-7912-1392

Odyntsova V. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-7883-8917

Відомості про авторів:

Мацегорова О. Є., аспірант каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Одинцова В. М., д-р фарм. наук, професор каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Cruciani S, Garroni G, Ginesu GC, Fadda A, Ventura C, Maioli M. Unravelling Cellular Mechanisms of Stem Cell Senescence: An Aid from Natural Bioactive Molecules. *Biology*. 2020;9(3):57. doi: [10.3390/biology9030057](https://doi.org/10.3390/biology9030057)
- Mir MA, Bashir N, Alfaify A, Oteef MDY. GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC Complement Med Ther*. 2020;20(1):86. doi: [10.1186/s12906-020-2863-3](https://doi.org/10.1186/s12906-020-2863-3)
- Polat Yemiş G, Sezer E, Sıçramaz H. Inhibitory Effect of Sodium Alginate Nanoemulsion Coating Containing Myrtle Essential Oil (*Myrtus communis* L.) on *Listeria monocytogenes* in Kasar Cheese. *Molecules*. 2022;27(21):7298. doi: [10.3390/molecules27217298](https://doi.org/10.3390/molecules27217298)
- Saraiva C, Silva AC, García-Díez J, Cenci-Goga B, Grispoldi L, Silva AF, et al. Antimicrobial Activity of *Myrtus communis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils against *Listeria monocytogenes* in Cheese. *Foods*. 2021;10(5):1106. doi: [10.3390/foods10051106](https://doi.org/10.3390/foods10051106)
- Barhouchi B, Menacer R, Bouchkioua S, Mansour A, Belattar N. Compounds from myrtle flowers as antibacterial agents and SARS-CoV-2 inhibitors: In-vitro and molecular docking studies. *Arab J Chem*. 2023;16(8):104939. doi: [10.1016/j.arabjc.2023.104939](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104939)
- Mehrbod P, Safari H, Mollai Z, Fotouhi F, Mirfakhraei Y, Entezari H, et al. Potential antiviral effects of some native Iranian medicinal plants extracts and fractions against influenza A virus. *BMC complementary medicine and therapies*. 2021;21(1):246. doi: [10.1186/s12906-021-03423-x](https://doi.org/10.1186/s12906-021-03423-x)
- Prall S, Bowles EJ, Bennett K, Cooke CG, Agnew T, Steel A, et al. Effects of essential oils on symptoms and course (duration and severity) of viral respiratory infections in humans: A rapid review. *Adv Integr Med*. 2020;7(4):218-21. doi: [10.1016/j.aimed.2020.07.005](https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.07.005)
- Leigh-de Rapper S, Viljoen A, van Vuuren S. Essential Oil Blends: The Potential of Combined Use for Respiratory Tract Infections. *Antibiotics*. 2021;10(12):1517. doi: [10.3390/antibiotics10121517](https://doi.org/10.3390/antibiotics10121517)
- Saadat S, Beigoli S, Khazdair MR, Amin F, Boskabady MH. Experimental and Clinical Studies on the Effects of Natural Products on Noxious Agents-Induced Lung Disorders, a Review. *Front Nutr*. 2022;9:867914. doi: [10.3389/fnut.2022.867914](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.867914)
- Ben Hsouna A, Dhibi S, Dhifi W, Mnif W, Ben Nasr H, Hfaiedh N. Chemical composition and hepatoprotective effect of essential oil from *Myrtus communis* L. flowers against CCL4-induced acute hepatotoxicity in rats. *RSC Adv*. 2019;9(7):3777-87. doi: [10.1039/c8ra08204a](https://doi.org/10.1039/c8ra08204a)
- Franco AM, Tocci N, Guella G, Dell'Agli M, Sangiovanni E, Perenzoni D, et al. Myrtle Seeds (*Myrtus communis* L.) as a Rich Source of the Bioactive Ellagitannins Oenothrin B and Eugeniflorin D₂. *ACS omega*. 2019;4(14):15966-74. doi: [10.1021/acsomega.9b02010](https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02010)
- Hesami D, Ghaffarifar F, Dalimi A, Dayer MS, Nasiri V, Sheikh S. Investigating in Vivo and in Vitro Effects of Ethanolic and Aqueous Extracts of Myrtle (*Myrtus communis*) on *Leishmania major*. *Iran J Parasitol*. 2021;16(4):641-51. doi: [10.18502/ijpa.v16i4.7877](https://doi.org/10.18502/ijpa.v16i4.7877)
- Rostami Chaijan M, Handjani F, Zarshenas M, Sedigh Rahimabadi M, Tavakkoli A. The myrtle *communis* L. solution versus ketoconazole shampoo in treatment of dandruff: A double blinded randomized clinical trial. *J Pak Med Assoc*. 2018;68(5):715-20.
- Salmanian M, Shirbeigi L, Hashem-Dabaghian F, Mansouri P, Azizkhani M, Alavi S, et al. The Effects of Myrtle (*Myrtus communis*) and Clindamycin Topical Solution in the Treatment of Mild to Moderate Acne Vulgaris: A Comparative Split-Face Study. *J Pharmacopuncture*. 2020;23(4):220-9. doi: [10.3831/KPI.2020.23.4.220](https://doi.org/10.3831/KPI.2020.23.4.220)
- Berendika M, Domjanić Drozdek S, Odeh D, Oršolić N, Dragičević P, Sokolović M, et al. Beneficial Effects of Laurel (*Laurus nobilis* L.) and Myrtle (*Myrtus communis* L.) Extract on Rat Health. *Molecules*. 2022;27(2):581. doi: [10.3390/molecules27020581](https://doi.org/10.3390/molecules27020581)
- Odeh D, Oršolić N, Berendika M, Đikić D, Domjanić Drozdek S, Balbino S, et al. Antioxidant and Anti-Atherogenic Activities of Essential Oils from *Myrtus communis* L. and *Laurus nobilis* L. in Rat. *Nutrients*. 2022;14(7):1465. doi: [10.3390/nu14071465](https://doi.org/10.3390/nu14071465)
- Askari SF, Jahromi BN, Dehghanian A, Zarei A, Tansaz M, Badr P, et al. Effect of a novel herbal vaginal suppository containing myrtle and oak gall in the treatment of vaginitis: a randomized clinical trial. *Daru*. 2020;28(2):603-14. doi: [10.1007/s40199-020-00365-6](https://doi.org/10.1007/s40199-020-00365-6)
- Bellu E, Diaz N, Kralović M, Divin R, Sarais G, Fadda A, et al. Myrtle-Functionalized Nanofibers Modulate Vaginal Cell Population Behavior While Counteracting Microbial Proliferation. *Plants*. 2022;11(12):1577. doi: [10.3390/plants11121577](https://doi.org/10.3390/plants11121577)
- Khalilzadeh S, Eftkhar T, Shirbeigi L, Tabarraei M, Tolyat T, Fayazmanesh S, et al. Efficacy of a vaginal tablet as a Persian medicine

- product on vulvovaginal candidiasis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Pharm Biol.* 2020;58(1):574-80. doi: [10.1080/013880209.2020.1784236](https://doi.org/10.1080/013880209.2020.1784236)
20. Hager R, Pitsch J, Kerbl-Knapp J, Neuhauser C, Ollinger N, Iken M, et al. A High-Content Screen for the Identification of Plant Extracts with Insulin Secretion-Modulating Activity. *Pharmaceuticals.* 2021;14(8):809. doi: [10.3390/ph14080809](https://doi.org/10.3390/ph14080809)
 21. Dib K, Cherrah Y, Rida S, Filali-Maltouf A, Ennabi O. In Vitro Antibacterial Activity of *Myrtus communis* L. and *Marrubium vulgare* L. Leaves against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Eikenella corrodens*. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:8351332. doi: [10.1155/2021/8351332](https://doi.org/10.1155/2021/8351332)
 22. Rahimvand L, Niakan M, Naderi NJ. The antibacterial effect of aquatic and methanolic extract of *Myrtus communis* on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Iran J Microbiol.* 2018;10(4):254-7.
 23. Raouf M, Khaleghi M, Siasar N, Mohannadalizadeh S, Haghani J, Amanpour S. Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of *Myrtus Communis* L. and *Eucalyptus Galbie* and their Combination with Calcium Hydroxide Powder against *Enterococcus Faecalis*. *J Dent (Shiraz).* 2019;20(3):195-202. doi: [10.30476/DENTJODS.2019.44898](https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.44898)
 24. Talebi Ardakani M, Farahi A, Mojab F, Moscowchi A, Gharazi Z. Effect of an herbal mouthwash on periodontal indices in patients with plaque-induced gingivitis: A cross-over clinical trial. *J Adv Periodontol Implant Dent.* 2022;14(2):109-13. doi: [10.34172/japid.2022.017](https://doi.org/10.34172/japid.2022.017)
 25. Aleksic V, Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol Res.* 2014;169(4):240-54. doi: [10.1016/j.micres.2013.10.003](https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.003)
 26. Henna A, Miguel MG, Nemliche S. Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts: A Brief Review. *Medicines.* 2018;5(3):89. doi: [10.3390/medicines5030089](https://doi.org/10.3390/medicines5030089)
 27. Sisay M, Gashaw T. Ethnobotanical, Ethnopharmacological, and Phytochemical Studies of *Myrtus communis* Linn: A Popular Herb in Unani System of Medicine. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2017;22(4):1035-43. doi: [10.1177/215658721718958](https://doi.org/10.1177/215658721718958)
 28. Usai M, Marchetti M, Culeddu N, Mulas M. Chemotaxonomic Evaluation by Volatolomics Analysis of Fifty-Two Genotypes of *Myrtus communis* L. *Plants.* 2020;9(10):1288. doi: [10.3390/plants9101288](https://doi.org/10.3390/plants9101288)
 29. Medda S., Dessena L., Mulas M. Monitoring of the PAL Enzymatic Activity and Polyphenolic Compounds in Leaves and Fruits of Two Myrtle Cultivars during Maturation. *Agriculture* 2020;10:389. doi: [10.3390/agriculture10090389](https://doi.org/10.3390/agriculture10090389)
 30. Shahbazian D, Karami A, Raouf Fard F, Eshghi S, Maggi F. Essential Oil Variability of Superior Myrtle (*Myrtus communis* L.) Accessions Grown under the Same Conditions. *Plants.* 2022;11(22):3156. doi: [10.3390/plants11223156](https://doi.org/10.3390/plants11223156)
 31. Dhifi W, Jazi S, El Beyrouthy M, Sadaka C, Mnif W. Assessing the potential and safety of *Myrtus communis* flower essential oils as efficient natural preservatives against *Listeria monocytogenes* growth in minced beef under refrigeration. *Food Sci Nutr.* 2020;8(4):2076-87. doi: [10.1002/fsn3.1497](https://doi.org/10.1002/fsn3.1497)
 32. Giuliani C, Bottoni M, Milani F, Todero S, Berera P, Maggi F, et al. Botanic Garden as a Factory of Molecules: *Myrtus communis* L. subsp. *communis* as a Case Study. *Plants.* 2022;11(6):754. doi: [10.3390/plants11060754](https://doi.org/10.3390/plants11060754)
 33. Giuliani C, Moretti RM, Bottoni M, Santagostini L, Fico G, Montagnani Marelli M. The Leaf Essential Oil of *Myrtus communis* subsp. *tarentina* (L.) Nyman: From Phytochemical Characterization to Cytotoxic and Antimigratory Activity in Human Prostate Cancer Cells. *Plants.* 2023;12(6):1293. doi: [10.3390/plants12061293](https://doi.org/10.3390/plants12061293)
 34. Ouedrhiri W, Mechchate H, Moja S, Mothana RA, Noman OM, Grafov A, et al. Boosted Antioxidant Effect Using a Combinatory Approach with Essential Oils from *Origanum compactum*, *Origanum majorana*, *Thymus serpyllum*, *Mentha spicata*, *Myrtus communis*, and *Artemisia herba-alba*: Mixture Design Optimization. *Plants.* 2021;10(12):2817. doi: [10.3390/plants10122817](https://doi.org/10.3390/plants10122817)
 35. Ouedrhiri W, Mechchate H, Moja S, Baudino S, Saleh A, Al Kamaly OM, et al. Optimized Antibacterial Effects in a Designed Mixture of Essential Oils of *Myrtus communis*, *Artemisia herba-alba* and *Thymus serpyllum* for Wide Range of Applications. *Foods.* 2022;11(1):132. doi: [10.3390/foods11010132](https://doi.org/10.3390/foods11010132)
 36. Usai M, Marchetti M, Culeddu N, Mulas M. Chemical Composition of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Berries Essential Oils as Observed in a Collection of Genotypes. *Molecules.* 2018;23(10):2502. doi: [10.3390/molecules23102502](https://doi.org/10.3390/molecules23102502)
 37. Snoussi A, Essaidi I, Ben Haj Koubaier H, Zrelli H, Alsafari I, Živoslav T, et al. Drying methodology effect on the phenolic content, antioxidant activity of *Myrtus communis* L. leaves ethanol extracts and soybean oil oxidative stability. *BMC chemistry.* 2021;15(1):31. doi: [10.1186/s13065-021-00753-2](https://doi.org/10.1186/s13065-021-00753-2)
 38. Bouaoudia-Madi N, Boulekbache-Makhlouf L, Madani K, Silva AMS, Dairi S, Oukhmanou-Bensidhoum S, et al. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from *Myrtus communis* L. *Pericarp.* *Antioxidants.* 2019;8(7):205. doi: [10.3390/antiox8070205](https://doi.org/10.3390/antiox8070205)
 39. Medda S, Sanchez-Ballesta MT, Romero I, Dessena L, Mulas M. Expression of Structural Flavonoid Biosynthesis Genes in Dark-Blue and White Myrtle Berries (*Myrtus communis* L.). *Plants.* 2021;10(2):316. doi: [10.3390/plants10020316](https://doi.org/10.3390/plants10020316)
 40. Cruciani S, Santaniello S, Garroni G, Fadda A, Balzano F, Bellu E, et al. *Myrtus* Polyphenols, from Antioxidants to Anti-Inflammatory Molecules: Exploring a Network Involving Cytochromes P450 and Vitamin D. *Molecules.* 2019;24(8):1515. doi: [10.3390/molecules24081515](https://doi.org/10.3390/molecules24081515)
 41. Correddu F, Maldini M, Addis R, Petretto GL, Palomba M, Battacone G, et al. *Myrtus communis* Liqueur Byproduct as a Source of Bioactive Compounds. *Foods.* 2019;8(7):237. doi: [10.3390/foods8070237](https://doi.org/10.3390/foods8070237)
 42. Mechchate H, de Castro Alves CE, Es-Safi I, Amaghnouje A, Jawhari FZ, Costa de Oliveira R, et al. Antileukemic, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Healing Activities Induced by a Polyphenol-Enriched Fraction Extracted from Leaves of *Myrtus communis* L. *Nutrients.* 2022;14(23):5055. doi: [10.3390/nu14235055](https://doi.org/10.3390/nu14235055)
 43. Caputo L, Capozzolo F, Amato G, De Feo V, Fratianni F, Vivencio G, et al. Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC complementary medicine and therapies.* 2022;22(1):142. doi: [10.1186/s12906-022-03583-4](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03583-4)
 44. Shaapan RM, Al-Abodi HR, Alanazi AD, Abdel-Shafy S, Rashidipour M, Shater AF, et al. *Myrtus communis* Essential Oil; Anti-Parasitic Effects and Induction of the Innate Immune System in Mice with *Toxoplasma gondii* Infection. *Molecules.* 2021;26(4):819. doi: [10.3390/molecules26040819](https://doi.org/10.3390/molecules26040819)
 45. Bowbe KH, Salah KBH, Mourni S, Ashkan MF, Merghni A. Anti-Staphylococcal Activities of *Rosmarinus officinalis* and *Myrtus communis* Essential Oils through ROS-Mediated Oxidative Stress. *Antibiotics.* 2023;12(2):266. doi: [10.3390/antibiotics12020266](https://doi.org/10.3390/antibiotics12020266)
 46. Guzzo F, Durán AG, Sanna C, Marasco R, Molfetta N, Buommino E, et al. Gallomyrtucommulones G and H, New Phloroglucinol Glycosides, from Bioactive Fractions of *Myrtus communis* against *Staphylococcus* Species. *Molecules.* 2022;27(20):7109. doi: [10.3390/molecules27207109](https://doi.org/10.3390/molecules27207109)
 47. Kawther A, Afrah EM, Hicham B, Alfadda AA, Alanazi IO, Alnehmi EA. Antimicrobial Mechanism and Identification of the Proteins Mediated by Extracts from *Asphaltum punjabianum* and *Myrtus communis*. *ACS Omega.* 2020;5(48):31019-35. doi: [10.1021/acsomega.0c04047](https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04047)
 48. Torabi I, Shariffar F, Izadi A, Ayatollahi Mousavi SA. Inhibitory effects of different fractions separated from standardized extract of *Myrtus communis* L. against nystatin-susceptible and nystatin-resistant *Candida albicans* isolated from HIV positive patients. *Heliyon.* 2022;8(3):e09073. doi: [10.1016/j.heliyon.2022.e09073](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09073)
 49. Sadeghi-Nejad B, Moghimipour E, Yusef Naanaie S, Nezarat S. Antifungal and antibacterial activities of polyherbal toothpaste against oral pathogens, in vitro. *Curr Med Mycol.* 2018;4(2):21-6. doi: [10.18502/cmm.4.2.65](https://doi.org/10.18502/cmm.4.2.65)
 50. Katayoon A, Saeid N, Mehrabani M, Nematollah MH, Fasihi Harandi M. In vitro evaluation on the scolicidal effect of *Myrtus communis* L. and *Tripleurospermum disciforme* L. methanolic extracts. *Exp Parasitol.* 2019;199:111-5. doi: [10.1016/j.exppara.2019.03.002](https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.03.002)
 51. Cevikelli- Yakut Z-A, Ertas B, Sen A, Koyuncuoglu T, Yegen BC, Sener G. *Myrtus communis* improves cognitive impairment in renovascular hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol.* 2020;71(5):665-77. doi: [10.26402/jpp.2020.5.07](https://doi.org/10.26402/jpp.2020.5.07)
 52. Mansour RB, Beji RS, Wasli H, Zekri S, Ksouri R, Megdiche-Ksouri W, et al. Gastroprotective Effect of Microencapsulated *Myrtus communis* Essential Oil against Ethanol/HCl-Induced Acute Gastric Lesions. *Molecules.* 2022;27(5):1566. doi: [10.3390/molecules27051566](https://doi.org/10.3390/molecules27051566)
 53. Soomro S, Mesaik MA, Shaheen F, Khan N, Halim SA, Ul-Haq Z, et al. Inhibitory Effects of Myrtucommuacetalone 1 (MCA-1) from *Myrtus communis* on Inflammatory Response in Mouse Macrophages. *Molecules.* 2019;25(1):13. doi: [10.3390/molecules25010013](https://doi.org/10.3390/molecules25010013)
 54. Kutlu Z, Gulaboglu M, Halici Z, Cinar I, Dıyrbakır B. Biochemical Research of the Effects of Essential Oil Obtained from the Fruit of *Myrtus communis* L. on Cell Damage Associated with Lipopoly-

- saccharide-Induced Endotoxemia in a Human Umbilical Cord Vein Endothelial Cells. *Biochem Genet.* 2021;59(1):315-34. doi: [10.1007/s10528-020-10005-y](https://doi.org/10.1007/s10528-020-10005-y)
55. Kuru Yaşar R, Kuru D, Şen A, Şener G, Ercan F, Yarat A. Effects of *Myrtus communis* L. Extract and Apocynin on Lens Oxidative Damage and Boron Levels in Rats with a High Fat-Diet. *Turk J Ophthalmol.* 2021;51(6):344-50. doi: [10.4274/tjo.galenos.2021.27981](https://doi.org/10.4274/tjo.galenos.2021.27981)
56. Eslami S, Ebrahimzadeh MA, Biparva P. Green synthesis of safe zero valent iron nanoparticles by *Myrtus communis* leaf extract as an effective agent for reducing excessive iron in iron-overloaded mice, a thalassemia model. *RSC Adv.* 2018;8(46):26144-55. doi: [10.1039/c8ra04451a](https://doi.org/10.1039/c8ra04451a)
57. Cioć M, Szewczyk A, Żupnik M, Żupnik M, Kalisz A, Pawłowska B. LED lighting affects plant growth, morphogenesis and phytochemical contents of *Myrtus communis* L. in vitro. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2018;132:433-47. doi: [10.1007/s11240-017-1340-2](https://doi.org/10.1007/s11240-017-1340-2)



Valeriana officinalis (Valerian) – review

V. I. Kokitko^{ID}*B,C,D, V. M. Odyntsova^{ID}A,E,F

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical 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

Valeriana officinalis L. s.l. is a perennial herbaceous plant belonging to the *Valerianaceae* family. It is widely distributed in Ukraine and around the world. The official medicinal raw material derived from *Valeriana officinalis* consists of the dried, whole, or fragmented underground parts of the plant, including the rhizome along with the roots and stolons. To meet the standards outlined in the European Pharmacopoeia, this raw material must be standardized based on its essential oil content (a minimum of 4 ml/kg in dried preparations) and sesquiterpenic acids (a minimum of 0.17 percent by weight, calculated as valeric acid, in dried preparations).

The aim of the work was searching, systematizing, and generalizing information from the specialized literature on the chemical composition, biological activity and therapeutic use of *Valeriana officinalis*.

Valeriana officinalis has sedative, mild analgesic, hypnotic, antispasmodic, carminative, and hypotensive effects. Historically, it was used for hysterical conditions, hyperexcitability, insomnia, hypochondria, migraine, spasms, intestinal colic, rheumatic pains, dysmenorrhea, and especially for conditions accompanied by nervous excitability. The main classes of biological substances identified in *Valeriana officinalis* are valepotriates, iridolactones, alkaloids, phenolic acids, sesquiterpenes, flavonoids, terpene coumarins, lignans, terpene and flavonol glycosides. It has not yet been established which components of *Valeriana officinalis* are responsible for its pharmacological effects. Current opinion is that the overall effect of valerian is due to several different groups of components and their different mechanisms of action. Therefore, the activity of different preparations of valerian will depend on their content and concentration of several types of components.

Conclusions. Summarized and systematized original works related to pharmacognostic study, phytochemical analysis, and medicinal use of underground and aerial parts of various species of *Valeriana* genus. The analysis of the material shows that in recent years, scientists from all over the world have paid attention to the above-ground part of valerian and have chosen it as an object of in-depth study. This approach opens new possibilities for the use of the herb *Valeriana officinalis* in medicine.

Keywords: *Valeriana officinalis* L., Valerianaceae, chemical composition, therapeutic significance, biological activity.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):79-87

Valeriana officinalis (Valerian) – огляд

В. І. Кокітко, В. М. Одинцова

Valeriana officinalis L. s.l. – багаторічна трав'яниста рослина з родини *Valerianaceae*, яка є дуже поширеною в Україні та світі. Офіційною лікарською сировиною *Valeriana officinalis* є висушені, цілі або фрагментовані підземні частини *Valeriana officinalis*, включаючи кореневище, оточене коренями та столонами. Сировина, відповідно до вимог Європейської фармакопеї, має бути стандартизована за вмістом ефірної олії (мінімум 4 мл/кг (висушений препарат)) та сесквітерпенових кислот (мінімум 0.17 відсотка т/т в перерахунку на валеренову кислоту (висушений препарат)).

Мета роботи – пошук, систематизація та узагальнення відомостей фахової літератури щодо хімічного складу, біологічної активності та терапевтичного застосування *Valeriana officinalis*.

Valeriana officinalis має заспокійливу, легку болезаспокійливу, снодійну, спазмолітичну, вітрогонну та гіпотензивну дії. Історично її використовували при істеричних станах, підвищеній збудливості, безсонні, іпохондрії, мігрені, спазмах, кишкових кольках, ревматичних болях, дисменореї, а особливо при станах, що супроводжуються нервовою збудливістю. Основними класами біологічних речовин, які ідентифіковано в *Valeriana officinalis*, є валепотріати, іридолактони, алкалоїди, фенольні кислоти, сесквітерпени, флавоноїди, терпенові кумарини, лігнани, терпенові та флавонолові глікозиди. Досі не встановлено, які саме компоненти *Valeriana officinalis* спричиняють її фармакологічні ефекти. Нині вважають, що загальний ефект валеріани зумовлений кількома різними групами компонентів з їхніми різними механізмами дії. Отже, активність різних препаратів валеріани залежатиме від складу та концентрації компонентів кількох типів.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/290436>

UDC 615.322:582.971.3]-047.37/.38
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.1.290436

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):79-87

Keywords: *Valeriana officinalis* L., Valerianaceae, chemical composition, therapeutic significance, biological activity.

*E-mail: valeriakokitko@gmail.com

Received: 06.11.2023 // Revised: 20.11.2023 // Accepted: 01.12.2023

Висновки. Узагальнили й систематизували оригінальні роботи, що стосуються фармакогностичного вивчення, фітохімічного аналізу та застосування в медицині підземної та надземної частин різних видів роду *Valeriana*. Аналіз матеріалу показав, що останніми роками науковці з усього світу звернули увагу на надземну частину валеріани та обрали її об'єктом детального вивчення. Цей підхід відкриває нові перспективи для використання трави *Valeriana officinalis* у медицині.

Ключові слова: *Valeriana officinalis* L., Valerianaceae, хімічний склад, терапевтичне значення, біологічна активність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 79-87

The skills of plant treatment developed in all peoples and are now preserved as traditional or folk therapy. *Valeriana officinalis*, which is successfully used in traditional therapy, is recognized and is an important medicinal raw material in modern medicine.

The family *Valerianaceae* includes 13 genera, which have about 400 species. The genus *Valeriana* includes about 150 perennial herbaceous plants [1]. The most important species used in European therapy is valerian (*Valeriana officinalis* L.) [2]. On the territory of Ukraine, the collective species *Valeriana officinalis* L. includes 13 species: *Valeriana dioica* L., *Valeriana tuberosa* L., *Valeriana tripteris* L., *Valeriana transilvanika* Schur, *Valeriana sambucifolia* Mikan, *Valeriana rossica* P. Smirn., *Valeriana tanaitica* Worosch., *Valeriana collina* Wallr., *Valeriana simplicifolia* (Reichenb.) Kabath, *Valeriana exaltata* Mikan, *Valeriana nitida* Kreyer, *Valeriana grossheimii* Worosch., *Valeriana stolonifera* Czern [3].

The natural range of plants of the *Valeriana* species is located in the temperate and boreal zones of Europe and Asia and spreads in the eastern part of North America. *Valeriana officinalis* is a species used in Europe. *Valeriana fauriei* is commonly used in traditional Chinese and Japanese medicine. *Valeriana capensis* is a species used in African traditional medicine, *Valeriana edulis* is popular in Mexico, and *Valeriana wallichii* is used in India [4].

Valeriana officinalis is a herbaceous perennial plant, but in its early life, it behaves like a winter annual. The first year is characterized mainly by vegetative growth. Eventually, the plants fall into hibernation together with the underground parts (rhizome) and young vegetative buds of the shoots. The first generative phase occurs after vernalization, in which shoot buds are induced. The following spring, basal leaves (rosette) appear, starting in February and stretching the internodes. By stretching the internodes, rosettes form a shoot that is covered with leaves, and at the end of which there is an inflorescence. After flowering and seed ripening, the inflorescence and basal leaves die, after which new basal leaves and underground shoot buds are formed until the plant goes dormant. This process allows valerian to renew itself repeatedly over several years [5].

The morphology is quite diverse, thanks to the complex taxonomy. Representatives of the species *Valeriana officinalis* have a densely branched tap root system, the main and lateral roots are thick and strong, and the additional roots are branched. As a result of growth on wide areas and in different types of soil, the color of the roots is different – brown, dark brown, yellowish brown, brownish yellow, yellow. An anatomical study of *in vitro* roots grown on media of different compositions revealed significant differences in the structure and size of cells, the thickness of the cell wall, and

especially in the presence and number of starch grains in the cells of the parenchyma cortex [6]. Stems are herbaceous, cylindrical, hollow, grooved, and striped with clear ribs and grooves, height from 10 to 150 cm. Leaves are simple, terminal, petiolate, opposite-cross, wither during fruiting but do not fall. The leaves differ in the shape of the blade, apex, base, and their attachments, core, color, and size. In young plants, the leaves are green or pale green, in adult plants – yellowish-green or yellowish-brown. The flowers are hermaphrodite, complete, asymmetric, small, fragrant, collected in dichasia, forming a shield-shaped panicle. Calyx in the form of teeth that grow during fruiting. The corolla is tubular-funnel-shaped, the bend is five-lobed, sympetalous (the tube in the lower part of the corolla with a one-sided sac-like swelling), sac-shaped or pointed at the base. The color of the corolla is from pink to pink white. Filamentous stamens from one to three, they are attached to the corolla tube. The ovary is lower and three-nested (three carpels). The gynoeceum is syncarpous, the fruit is a simple dry, unopened achene, which is formed from the lower ovary of one flower, with one seed, often crowned with a persistent calyx (with a feathery fringe). The shape of the fruit is narrowly ovoid, oblong, compressed, and slightly curved, with three narrow shallow slits (grooves) at the back and two wide shallow slits at the front; from yellow to brown-yellow or straw color [1].

The yield of air-dried roots of *Valeriana officinalis* in the second and third years of the growing season, with higher yields being formed in weather that is more favorable conditions of the growing season. The yield of the aboveground mass of valerian in all years of research significantly increased in the second, then in third years of vegetation, and then significantly decreased in the fourth and fifth years of vegetation. On average, over the years of research, the same regularity was observed, from which it could be concluded that the highest yields of green mass of medicinal valerian are formed in the second and third years of plant vegetation [7].

Aim

The aim of the work was searching, systematizing, and generalizing information from the specialized literature on the chemical composition, biological activity and therapeutic use of *Valeriana officinalis*.

Results

Valeriana officinalis in official phytotherapy. The official medicinal raw material of *Valeriana officinalis* consists of the dried, whole, or fragmented underground parts, including the rhizome surrounded by roots and stolons. According to the requirements outlined in the eighth edition of the European

Pharmacopoeia, this raw material must be standardized based on the content of essential oil (a minimum of 4 ml/kg of dried preparation) and sesquiterpenic acids (a minimum of 0.17 percent m/m, calculated in terms of valeric acid). The European Pharmacopoeia also features monographs on dry aqueous and dry hydroalcoholic extracts of valerian, as well as tincture of valerian derived from the underground organs (Valerian root). The standardization process is based on the content of sesquiterpene acids, calculated in terms of valeric acid [8].

Pharmacotherapeutic action. *Valeriana officinalis* is known for its sedative, mild analgesic, hypnotic, antispasmodic, carminative, and hypotensive effects. Traditionally, it was employed to address conditions such as hysteria, increased excitability, insomnia, hypochondria, migraine, spasms, rheumatic pains, dysmenorrhea, and especially for conditions accompanied by nervous excitability [9]. In contemporary times, there is a renewed interest in *Valeriana officinalis*, particularly for its sedative and hypnotic properties.

A monograph approved by the Committee for Herbal Medicinal Products of the European Medicines Agency outlines the following therapeutic uses for valerian root: it is traditionally employed in herbal medicine to alleviate mild symptoms of mental stress and to enhance sleep quality [10]. It is worth noting that valerian typically requires 2–3 weeks of use before its hypnotic effects become noticeable [11].

The sedative and hypnotic properties of *Valeriana officinalis* have been attributed to some valerian root and rhizome preparations, as observed in both preclinical and clinical studies. However, it remains unclear which specific components of *Valeriana officinalis* are responsible for these sedative and hypnotic effects [9]. Initially, attention was directed toward the volatile oil, and subsequently, to the valepotriates and their breakdown products. Nevertheless, it was discovered that the volatile oil alone could not account for the entirety of the drug's effects, and the valepotriates, which degrade rapidly, are unlikely to be present in finished drug products at significant concentrations. Current consensus suggests that *Valeriana officinalis*'s overall effects are likely attributed to several distinct groups of components, each with their unique mechanisms of action. Consequently, the activity of Valerian preparations depends on the content and concentration of these various components within the chemical composition.

It is interesting to note that one of the potential mechanisms of action of *Valeriana officinalis* extract has been identified in a study evaluating its effectiveness as a treatment for Parkinson's disease. Active components present in the extract, including valeric acid, hydroxyvaleric acid, acetoxyvaleric acid, and volvalerenone, were found to interact with GABA receptors, influencing the excitability of the cerebral cortex. These components also formed a complex with SUR1, a protein that regulates potassium ions in the pancreas by interacting with KIR6.2. This interaction led to a change in the activity of the enzyme thyroxine hydrolase, ultimately resulting in an increase in dopamine levels [12].

The study conducted by Kousuke Harada, and colleagues focused on investigating the effects of valerian on adipocytes

using 3T3-L1 adipocytes. The researchers aimed to determine whether valerian could potentially serve as a functional agent for type 2 diabetes. Their findings indicated that the methanolic extract of valerian root can induce adipocyte differentiation and stimulate adiponectin secretion. This effect is thought to be mediated through direct binding to PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) [13].

The study led by Daeyoung Roh and colleagues conducted a randomized, double-blind, placebo-controlled trial using electroencephalography to investigate whether valerian root extract affects changes in resting state connectivity and whether these changes are associated with clinical symptoms. The results revealed that the group receiving valerian root extract exhibited significantly greater increases in frontal brain alpha coherence between the four electrode pairs compared to the placebo group. Additionally, these changes in frontal brain alpha coherence were found to be significantly correlated with reduced anxiety, or anxiety disorder. The experimental group also displayed significantly greater reductions in theta coherence across the other four electrode pairs. In summary, the research demonstrated that valerian root extract has the potential to alter the functional connectivity of the brain in relation to anxiety [14].

Phytochemical profile. *Valeriana officinalis* indeed has a diverse chemical composition. Various classes of biological substances have been identified in this plant through numerous studies. These compounds include valepotriates, iridolactones, alkaloids, phenolic acids, sesquiterpenes, flavonoids, sesquiterpenoids, terpene coumarins, lignans, and terpene and flavonol glycosides [15].

Essential oil. The essential oils of *Valeriana officinalis* are indeed complex mixtures of natural compounds with a variety of pharmacological effects. These oils primarily consist of volatile components, including lipids, terpenoids, ketones, phenols, and oxygen derivatives (Table 1). It is important to note that the composition of valerian root oil can vary significantly due to factors such as geographical location, cultivation methods, seasonal variations, the physiological age of the plant, and the oil extraction method [16].

Thirty-seven different compounds were identified in the essential oil of *Valeriana officinalis*, with eight compounds being the dominant ones. These dominant compounds included bornyl acetate (18.44–36.94 %), valerianol (8.69–22.89 %), valeranone (7.17–13.59 %), intermediol (0.00–11.84 %), camphene (1.04–11.18 %), myrtenyl acetate (3.38–6.77 %), agarospirole (3.50–8.71 %), and γ -eudesmol (1.17–5.37 %). Among these, bornyl acetate was the most dominant compound in all the studied samples [16].

The study of valerian roots cultivated in the south-eastern region of Poland provides further insights into the composition of the essential oil of *Valeriana officinalis*. The analysis identified 71 essential oil compounds, reflecting the richness and diversity of this plant's volatile components. The predominant substance in the essential oil was bornyl acetate, accounting for 15.42 % of the oil. Additionally, several other compounds were present in significant quantities, including elemol (8.01 %), β -gurjunene (6.20 %), camphene (5.43 %),

Table 1. Component content of *Valeriana officinalis* essential oil

No.	The name of the component	Contents, %	References	No.	The name of the component	Contents, %	References
1	α -Fenchene	0.0–5.8	2, 16, 19	41	Camphor	0.0–0.1	19
2	β -Pinene	0.00–1.76	2, 16, 19	42	Caryophyllene oxide	0.2–0.7	2
3	(E)-Carveol	0.1–1.7	19	43	cis-Carveyl acetate	0.0–0.4	19
4	(Z,E)-Farnesol	0.0–0.2	19	44	cis-Pinocarvyl acetate	0.1–0.5	2, 19
5	(Z)-valerylacetate	4.5–6.5	17	45	cis-Sesquisabinene hydrate	1.24	2
6	10-epi- γ -Eudesmol	0.00–0.84	16	46	cis-Valerenyl acetate	0.0–1.6	19
7	2,5-Dimethoxy- <i>p</i> -cymene	0.00–0.45	16	47	Cubebol	0.48–1.88	16
8	2,6-Dimethoxy- <i>p</i> -pymene	0.0–0.2	19	48	Dihydroisolongifolene	0.0–1.0	19
9	3-Methylvaleric acid	0.0–0.2	19	49	Elemol	0.00–8.01	16
10	7-Epi-sesquithujene	0.00–0.22	16	50	<i>epi</i> - α -Muurolol	0.44	2
11	8-a-Acetoxyelemol	3.71	2	51	Epibicyclosesquiphellandrene	0.1–0.9	19
12	8-Amorphene	0.09	2	52	Epiglobulol	0.2–0.6	19
13	8-Cadinene	0.60–1.14	2, 19	53	epoxy-allo Alloaromadendrene	0.24–7.6	2, 19
14	8-Cedren-13-ol acetate	0.21	2	54	Eremoligenol	0.49	2
15	8-Elemene	1.32	2	55	Geranyl valerate	0.0–0.5	19
16	8S.14-Cedranediol	2.01	2	56	Geranylisovalerate	0.0–0.3	19
17	9-epi-(E)-Caryophyllene	3.82–4.77	2	57	Germacrene B	0.43–0.92	2, 16
18	Acetoxivalerenone	5.6–9.6	17	58	Germacrene D	0.00–2.36	2, 16, 19
19	Acetoxivalerenic acid	0.89–24.20	25	59	Germacrene D-4-ol	0.00–0.68	16
20	α -Acoradiene	0.16	2	60	Germacrene	4.57	2
21	α -Bisabolol	0.2–0.7	19	61	Globulol	0.08	2, 19
22	α -Cadinene	0.08	2	62	Guaia-6,9-diene	0.00–0.39	16
23	α -Copaene	0.40–0.45	2, 19	63	hydroxy- α -Muurolene	0.07	2
24	α-Farnesene	0.3–23.0	19	64	Hydroxyvalerenic acid	0.34–4.25	25
25	α -Guaiene	0.0–0.3	19	65	Intermedeol	0.00–11.84	16
26	α -Gurjunene	0–1.5	19	66	Isoamylisovalerate	0.0–0.1	19
27	α -Humulene	0.3–2.2	19	67	Isopentylisovalerate	0.06	2
28	α -Terpineol	0.0–0.5	19	68	Isopenty-1-2-methyl butanoate	0.06	2
29	α -Thujene	0.0–0.1	2, 19	69	Isovaleric acid	0.0–41.8	19
30	Agarospinol	3.50–8.71	16	70	Kessane	0.0–1.5	2, 19
31	Aristolone	0.08	2	71	Kessanyl acetate	0.0–2.0	16,19
32	Aromadendrene	0.06–0.20	2, 19	72	Kessyl acetate	0.4–2.3	19
33	β -Curcumene	0.1	2	73	Kessyl alcohol	0.0–1.2	19
34	β -Ionone	0.0–3.7	19	74	Khusimone	0.84	2
35	β -Panasinsene	0.22	2	75	Khusinol acetate	0.2	2
36	Bicyclgermacrene	0.00–6.45	16	76	Ledol	0.2–1.7	19
37	Borneol	0.36–2.41	16	77	Limonene	0.00–1.04	16
38	Bornyl acetate	2.30–37.57	2, 16, 19	78	Linalylisovalerate	0.7–3.0	19
39	Bornylisovalerate	0.2–2.0	19	79	Longicyclene	1.00	2
40	Camphene	1.04–11.18	16	80	Longifolene	3.07	2, 19

Cont of Table 1.

No.	The name of the component	Contents, %	References	No.	The name of the component	Contents, %	References
81	Maali alcohol	0.00–1.86	16	105	Valencene	0.00–4.05	16
82	Myrtenol	0.00–1.46	16	106	Valencene ketone	0.4–3.0	19
83	Myrtenyl acetate	2.0–7.2	16	107	Valeranone	0.50–14.28	16, 19
84	Myrtenylisovalerate	1.1–2.5	19	108	Valerenal	0.0–14.7	19
85	<i>n</i> -Hexyl isovalerate	0.1–0.3	19	109	Valerenic acid	0.0–11.8	19, 25
86	Neryl isovalerate	0.0–0.4	19	110	Valerenol	0.0–0.8	19
87	Palmitic acid	1.0–1.3	19	111	Valerianol	0.30–22.89	16
88	Rosifoliol	0.00–1.37	16	112	Vetiselinenol	0.00–0.96	16
89	Sabinene	0.23	2, 19	113	Viridiflorene	0.66	2
90	Selina-diene alcohol	0.0–0.3	19	114	Viridiflorol	0.1–0.6	2, 19
91	Sesquiterpenoic acetate	0.0–4.1	19	115	γ -Gurjunene	3.62	2
92	Spathulenol	0.0–4.1	16	116	γ -Amorphene	0.25	2
93	β -Elemene	0.30–0.63	2	117	γ -Cadinene	0.06–1.10	2, 19
94	β -Eudesmol	0.0–1.1	19	118	γ -Terpinene	0.0–0.3	19
95	β -Longipinene	0.21	2	119	Z-Lanceol acetate	0.06	2
96	β -Phellandrene	0.70–3.04	2, 19	120	Zingiberene	0.1–1.5	19
97	T-Muurolo	0.1–1.6	19	121	α -Caryophyllene	0.00–1.53	16
98	Terpinen-4-ol	0.00–0.54	16	122	α -Pinene	0.0–3.6	16
99	Terpinyl acetate	0.4–1.1	2, 19	123	β -Bisabolene	0.00–0.59	16
100	Thuja-2,4(10)-diene	0.06	2	124	β -Gurjunene	0.0–6.2	2, 16, 19
101	Thujopsadiene	1.69	2	125	γ -Curcumene	0.00–1.32	2, 16, 19
102	<i>trans</i> -Valerenyl acetate	0.0–0.8	19	126	γ-Eudesmol	1.17–5.37	16
103	<i>trans</i> -Valerenylisovalerate	0.0–1.1	19	127	δ -Elemene	0.0–1.8	2, 19
104	Tricyclene	0.0–0.1	19				

9-epi-E-caryophyllene (4.77 %), bicyclohermacrene (4.61 %), hermacrene (4.57 %), myrtenyl acetate (3.90 %), caryophyllene (3.82 %), 8- α -acetoxylemol (3.71 %), and γ -gurjunene (3.62 %).

The content of sesquiterpenes valerenic and acetoxyvalerenic acids in the studied valerian raw material was 0.0519 % and 0.0677 %, respectively [2].

The researchers studied the composition of the essential oil obtained from the roots of wild samples of *Valeriana officinalis* L. from Iran. The main components of the extracted essential oil were isovaleric acid (18.7–41.8 %), valerenic acid (8.2–11.8 %), acetoxyvaleranone (5.6–9.6 %), (Z)-valernyl acetate (4.5–6.5 %), bornyl acetate (2.3–7.7 %) and valerenol (3.7–5.2 %) [17].

Analysis of the volatile oil content of eleven experimental samples of *Valeriana officinalis* of different origins from Romania, Poland, and Germany was carried out in Brasov, Romania. As a result of research, it was established that in the group of varieties, which includes three varieties of *Valeriana officinalis*, created in the process of selection and improvement – variety MAGURELE 100 (M-100),

variety MUNKA-Polonia, variety POLKA-Polonia, the essential oil content is 0.84 ml/100 g, 1.19 ml/100 g and 0.16 ml/100 g, respectively. In a group of *Valeriana* species obtained from Germany, the essential oil content is 0.94 ml/100 g for *Valeriana collina*, 0.63 ml/100 g for *Valeriana rossica*, and 0.69 ml/100 g for *Valeriana wolgensis*. The last group includes five species of *Valeriana officinalis* grown in Bucharest. In these samples, the essential oil content ranged from 0.34 to 0.45 ml/100 g [18].

Determination of variations in the composition of the essential oil of the roots of five samples of *Valeriana officinalis* grown in Estonia was carried out by the methods of gas chromatography and gas chromatography with mass spectrometry. The yield of essential oil for five samples of valerian roots from Estonia ranged from 0.28 % to 1.16 % [19].

In the study of the essential oil composition of *Valeriana pilosa*, researchers identified a total of forty-seven compounds. The major compounds fell into the classes of sesquiterpenes (37.7 %) and monoterpene hydrocarbons (9.5 %). Among these, oxygen-containing sesquiterpenes were the most predominant (26.6 %) compared to oxygen-containing

Table 2. Quantitative content of phenolic compounds (mg/1 g of dry matter)

No.	The name of the component	Contents, mg/g	References
1	Gallic Acid	0.11–7.36	25, 27, 28
2	Chlorogenic Acid	0.09–38.16	25, 27, 29
3	Rutin	0.09–1.54	26, 28
4	Caffeic Acid	0.17–13.71	25, 26, 27
5	3-Hydroxybenzoic acid	0.07–4.96	26, 27
6	Ferulic acid	0.20–4.97	27
7	<i>m</i> -coumaric acid	0.11–15.90	27
8	<i>p</i> -coumaric acid	0.26–5.94	27
9	Protocatechuic Acid	0.46–1.20	25
10	4-Hydroxybenzoic acid	2.06–3.22	26
11	Salicylic acid	2.79–3.31	26
12	<i>p</i> -Coumaric acid	1.84–1.93	26
13	Apigenin	32.50	26
14	Hesperetin	0.32–0.54	26
15	Quercetin	43.76	26

monoterpenes (8.3 %). Additionally, the oil contained other compounds in lower concentrations (5.7 %) [20].

The Institute of Biodiversity and Ecosystem Research in Sofia conducted research on the underground organs of *Valeriana officinalis* cultivated *in vitro*. In this study, the main compounds identified from the class of essential oils included isovaleric acid (55.2 %) and squalene (19.7 %). Additionally, several other compounds were detected, such as spatulenol (4.2 %), valerenal (2.3 %), and caryophyllene oxide (1.4 %). Minor compounds, each at less than or equal to 1 %, included 3-methylpentanoic acid, bornyl acetate, viridiflorol, valeranyl acetate, geranyl isovalerate, trans-valerenyl isovalerate, patchouli alcohol, and some unidentified sesquiterpene alcohols. Furthermore, the research included the study of cultures grown *in vitro*. The analysis of the essential oil from these cultures revealed the main identified compounds to be the monoterpene citronellol (18.1 %) and the sesquiterpene ketone valeranone (17.2 %). Smaller amounts of geraniol (6.0 %), viridiflorol (1.4 %), and valerenal (1.3 %) were also detected [6].

Valepotriates. Valepotriates are esters formed by the combination of organic acids and triterpene tertiary alcohols. They are primarily found in the roots and rhizomes of *Valeriana officinalis*. The main valepotriates in *Valeriana officinalis* include valtrate, isovaltrate, IVHD-valtrate, didrovaltrate, and acevaltrate [21]. These compounds are notable for their sedative and anxiolytic properties, and as such, they are frequently utilized as natural remedies for managing anxiety and sleep disorders.

The precise mechanisms by which valepotriates exert their effects are not entirely elucidated, but there is a belief that they enhance the activity of the neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA) within the brain. GABA is an inhibitory

neurotransmitter that plays a crucial role in regulating brain activity and promoting relaxation.

Chunguo Wang and colleagues developed a method for the qualitative and quantitative analysis of valepotriates in *Valeriana jatamansi* using high-performance liquid chromatography. In the underground organs of the studied plants, they identified 92 compounds from the class of valepotriates and established their structural formulas [22].

In another study, researchers found valepotriates including 5-hydroxy-5,6-dihydrovaltrate hydrin (5-hydroxy-5,6-dihydrovaltrate chlorohydrin), 5,6-dihydrovaltrate hydrin (5,6-dihydrovaltrate chlorohydrin) in the underground organs of *Valeriana jatamansi*. Additionally, 5-hydroxy-5,6-dihydrovaltrate and valtrate hydran (valtrate chlorohydrin) were identified [23].

Valepotriates, including compounds like isodihydrovaltrate (18.99 %), homovaltrate (13.51 %), 10-acetoxy-valtrate hydrin (4.00 %), and valtrate (1.34 %), were identified using chromatographic methods in the roots of *Valeriana edulis* [24].

Phenolic compounds. All parts of *Valeriana officinalis* are rich in flavonoids, which are a group of phenolic compounds with antioxidant activity (Table 2).

Cheng-Rong Wu and colleagues quantified phenolic compounds in *Valeriana officinalis* roots and rhizomes. The total content of phenolic compounds in terms of gallic acid in the root extract ranges from 19.33 to 33.16 mg/g, depending on the extraction method, and from 15.44 to 26.78 mg/g in the rhizomes. Phenolic acids such as gallic, protocatechuic, chlorogenic, caffeic, and rosmarinic acids were also identified. The content of these studied substances in the roots ranged from 1.66 to 3.09 mg/g, and in the rhizomes from 1.08 to 2.14 mg/g [25].

In a study focused on new sources of bioactive phenolic compounds from the Western Balkan Mountains, it was found that the content of apigenin and quercetin in the extract of *Valeriana montana* flowers is approximately 32.50 ± 0.94 mg/g and 43.76 ± 2.12 mg/g, respectively. The total amount of phenolic compounds in the flowers of *V. montana* is measured at 8.61 mg/g, while in the leaves, it's approximately 1.15 mg/g [26].

A three-way analysis of variance was conducted on *Valeriana jatamansi*, revealing that variations in phytochemical content were influenced by lighting conditions, season, plant parts, and their interactions. The study determined that among the different parts of the plant, the leaves contained the highest total amount of phenols (9.6 mg/g), flavonoids (10.5 mg/g), and tannin (5.4 mg/g) compared to other parts (root, rhizome, and stem). Out of the twelve phenolic compounds examined, five compounds – vanillic acid, 4-hydroxybenzoic acid, rutin, phloridin, and *o*-coumaric acid – were found in very low amounts in some seasons. Specifically, vanillic acid and 4-hydroxybenzoic acid were detected only in leaves during the summer and autumn seasons, rutin was found in leaves in summer, phloridin was found in leaves and rhizomes in summer and winter, and *o*-coumaric acid was detected only in part of the rhizome in the winter, spring, and summer seasons.

Among other phenolic compounds, it was found that chlorogenic acid was the largest phenolic compound in all parts of the plants over all seasons.

The highest content of chlorogenic acid (38.160 µg/g) and 3-hydroxybenzoic acid (4.967 µg/g) was detected in leaves during the autumn and spring seasons. *p*-Coumaric acid accumulated the most (5.937 µg/g) during the autumn season in the stem. Halic acid (992 µg/g) was most abundant during the winter season in rhizomes, and it continued to accumulate during the sprouting season. During the summer season, the highest concentrations were found for *m*-coumaric acid (15.903 µg/g), cavaic acid (13.711 µg/g), and ferulic acid (2.453 µg/g) in the leaves.

The majority of phytochemical substances accumulate most significantly during the summer season. Additionally, various types of phytochemicals are more likely to accumulate in low-light conditions, especially in shaded areas [27].

Research on phenolic compounds, flavonoids, and hydroxycinnamic compounds in six different species of the Valerian genus that grow in Argentina revealed high levels of phenolic compounds ranging from 125.52 to 890.25 mg of gallic acid per 100 mg of dried rosemary syrup, with the following ranking: *Valeriana effusa* < *Valeriana ferax* < *Valeriana macrorrhiza* < *Valeriana clarionifolia* < *Valeriana officinalis* < *Valeriana carnososa*. Furthermore, all the studied species exhibited flavonoids instead of hydroxycinnamic acids. In all species, the presence of hesperidin and chlorogenic acid was identified. In all species that were studied, the presence of hesperidin and chlorogenic acid was identified, in extracts of *Valeriana clarionifolia* and *Valeriana macrorrhiza* the presence of diosmetin and 6-methylapigenin was identified. The levels of rutin in the preparations ranged from 8.82 to 81.98 mg per 100 mg of dry rosehip, and chlorogenic acid ranged from 50.83 to 1449.54 mg per 100 mg of dry rosemary. The highest content was found in *Valeriana carnososa* [28].

Dominika Srednicka-Tober et al. studied the effects of cultivation system and year of cultivation on the content of phenolic compounds, phenolic acids, and flavonoids in dried valerian roots. Valerian roots did not exhibit differences in phenolics, phenolic acids, or flavonoids based on the growing system (organic vs. conventional). However, there was a significant effect of the year, with higher levels of phenolic compounds, specifically phenolic acids, observed in the first year compared to the second year of the experiment.

In the 1960s, scientists from the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University initiated a comprehensive study of Valeriana species. Kornievskiy Yu. I. had conducted a pharmacognostic investigation of *V. stolonifera*'s underground organs. Trzetsynskiy S. D. had examined domestic Valeriana species and their pharmacological activity. Kornievskaya V. H. had compared *V. stolonifera* with *V. exaltata* through a pharmacognostic study. Shkrobotko P. Yu. had analyzed the elemental composition and biologically active substances in various Valeriana species, and S. V. Panchenko had conducted a comparative pharmacognostic study involving *V. grossheimii* and other Valeriana species.

Conclusions

Valeriana officinalis raw material is extensively employed in the medical practices of numerous countries. Recent professional studies on the biological activity of its extracts have reaffirmed its traditional use in phytotherapy. These studies confirm its valuable effects, including sedative, mild pain-relieving, hypnotic, antispasmodic, carminative, and hypotensive properties.

Interest in *Valeriana officinalis* arises not only from its global prevalence but primarily due to its medicinal value. The diverse chemical composition of the raw material, including valepotriates, iridolactones, alkaloids, phenolic acids, sesquiterpenes, flavonoids, sesquiterpenoids, terpene coumarins, lignans, glycosides, terpene glycosides, and flavonol glycosides, underlies its valuable medicinal properties.

Officially, *Valeriana officinalis* roots with rhizomes are recommended as a phytotranquilizer for various conditions, including hysteria, increased excitability, insomnia, hypochondria, migraine, spasms, rheumatic pains, dysmenorrhea, and conditions characterized by nervous excitability.

Much of the scientific research on *Valeriana officinalis* is centered on phytochemical analysis, which includes the examination of extracts from various plant parts and essential oil. These studies have revealed that differences in chemical composition are influenced by factors such as the plant's origin, composition, extraction methods, and the polarity of solvents used.

Many authors have analyzed the pharmacological properties of *Valeriana officinalis* plant extracts, including herbs, leaves, and roots. However, it is still unknown which components of *Valeriana officinalis* are responsible for certain properties. Future research should aim to establish associations between the mechanism of biological activity and particular compounds.

A study on the effects of valerian on adipocytes was conducted using 3T3-L1 adipocytes to investigate whether valerian has the potential to be a functional agent for type 2 diabetes. As a result, it was found that valerian root methanolic extract induces adipocyte differentiation and adiponectin secretion, possibly through direct binding to PPARγ.

Daeyoung Roh and colleagues conducted a randomized, double-blind, placebo-controlled trial using electroencephalography to investigate the impact of valerian root extract on resting brain functional connectivity and its association with clinical symptoms. In comparison to the placebo group, the valerian root extract group exhibited significantly greater increases in frontal brain alpha coherence between the four electrode pairs, and these changes were significantly correlated with reduced anxiety. The experimental group also showed notable reductions in theta coherence across the other four electrode pairs. This study suggests that valerian root extract can modulate brain functional connectivity in relation to anxiety.

All the mentioned studies pertain to mechanisms crucial for addressing civilization-related diseases, such as obesity and Parkinson's disease. Nevertheless, they are still at a consi-

derable distance from transitioning from *in vitro* experiments to practical applications in human treatment.

The contemporary usage of *Valeriana officinalis* is rooted in its longstanding traditional use. However, there is a need for further evaluation of the efficacy, potency, and dosage of the plant material and its extracts.

Traditionally considered less valuable than the underground organs, the above-ground part of *Valeriana officinalis* has become the focus of recent research, particularly due to its high flavonoid content. Flavonoids, known for their antioxidant, anti-inflammatory, and antiviral properties, play a vital role in maintaining health. Additional research is essential to confirm the potential and establish optimal methods for utilizing the aerial parts of *Valeriana officinalis* in medicine.

The study of *in vitro* cultures of *Valeriana officinalis* holds great promise. In the future, with further optimization, they may serve as an alternative source for obtaining biologically active compounds valuable in medicine, food production, and cosmetics.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Information about authors:

Kokitko V. I., Graduate Student of the of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9231-7627](https://orcid.org/0000-0001-9231-7627)

Odyntsova V. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-7883-8917](https://orcid.org/0000-0002-7883-8917)

Відомості про авторів:

Кокітко В. І., аспірантка кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Одинцова В. М., д-р фарм. наук, професор каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Bos R. Analytical and phytochemical studies on valerian and valerian based preparations [thesis]. University of Groningen; 1997. Available from: <https://research.rug.nl/en/publications/099e67b7-e840-42e9-a7ae-31222f3d8e36>
- Nurzyńska-Wierdak R. Biological active compounds from roots of *Valeriana officinalis* L. cultivated in south-eastern region of Poland. *Far-macia*. 2014;62(4):683-92.
- Korniiivskiy YI, Fursa MS, Prytula RL, Korniiivska VH, Panchenko SV. [Valerian medicinal history, chemistry and use]. *Problemy viiskovoi okhorony zdorovia*. 2015;43:296-320. Ukrainian. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/prvozod_2015_43_38
- Pilerood SA, Prakash J. Nutritional and medicinal properties of valerian (*Valeriana officinalis*) herb: A review. *Int J Food Sci Nutr Diet*. 2013;1(1):25-33.
- Penzkofer M. Breeding support for *Valeriana officinalis* L. s.l. : root structure, localization of value-determining secondary compounds and mating behavior at open pollination [dissertation]. Hannover: Gottfried Wilhelm Leibniz Universität; 2019. [10.15488/5237](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:5-65237-p0001-9)
- Nikolova A, Chunchukova M, Alipieva K, Stanilova M. Effect of plant growth regulators on the structure and biosynthetic capacity of *in vitro* roots of *Valeriana officinalis* (Valerianaceae). *Phytol Balcan*. 2017;23(3): 391-8.
- Serhienko YL, Mohylyvska LM, Svitelskyi MM. [Studying the performance and quality of raw materials *Valeriana officinalis* L. depending on sowing time and year of vegetation in botanical terms nursery Zhytomyr National Agroecological University]. *Nauka. Molod. Ekolohiia*. Proceedings of the international scientific and practical conference [Internet]; 2014 May 21-23; Zhytomyr, Ukraine; 2014 [cited 2023 Dec 21]. p. 388-93. Ukrainian. Available from: <http://ir.polissiauniver.edu.ua/handle/123456789/4824>
- Council of Europe European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare. *European Pharmacopoeia 8.0*. 8th ed. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare Council of Europe; 2014. p. 1412-7.
- Kenda M, Kočevár Glavač N, Nagy M, Sollner Dolenc M. Medicinal Plants Used for Anxiety, Depression, or Stress Treatment: An Update. *Molecules*. 2022;27(18):6021. doi: [10.3390/molecules27186021](https://doi.org/10.3390/molecules27186021)
- Assessment report on *Valeriana officinalis* L., radix and *Valeriana officinalis* L., aetheroleum. 7 July 2015 EMA/HMPC/150846/2015 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC).
- Abad VC, Guilleminault C. Insomnia in Elderly Patients: Recommendations for Pharmacological Management. *Drugs Aging*. 2018;35(9):791-817. doi: [10.1007/s40266-018-0569-8](https://doi.org/10.1007/s40266-018-0569-8)
- Santos G, Giraldez-Alvarez LD, Ávila-Rodríguez M, Capani F, Galembeck E, Neto AG, et al. SUR1 Receptor Interaction with Hesperidin and Linarin Predicts Possible Mechanisms of Action of *Valeriana officinalis* in Parkinson. *Front Aging Neurosci*. 2016;8:97. doi: [10.3389/fnagi.2016.00097](https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00097)
- Harada K, Kato Y, Takahashi J, Imamura H, Nakamura N, Nishina A, et al. The Effect of Methanolic *Valeriana officinalis* Root Extract on Adipocyte Differentiation and Adiponectin Production in 3T3-L1 Adipocytes. *Plant Foods Hum Nutr*. 2020;75(1):103-9. doi: [10.1007/s11130-019-00790-2](https://doi.org/10.1007/s11130-019-00790-2)
- Roh D, Jung JH, Yoon KH, Lee CH, Kang LY, Lee SK, et al. Valerian extract alters functional brain connectivity: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Phytother Res*. 2019;33(4):939-48. doi: [10.1002/ptr.6286](https://doi.org/10.1002/ptr.6286)
- Shukla V, Singh P, Konwar R, Singh B, Kumar B. Phytochemical analysis of high value medicinal plant *Valeriana jatamansi* using LC-MS and its *in-vitro* anti-proliferative screening. *Phytomedicine Plus*. 2021;1(2). doi: [10.1016/j.phyplu.2021.100025](https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100025)
- Nakurte CI, Mežaka I, Taškova I, Primavera A, Vecvanags A, et al. Seasonal changes in chemical composition of *Valeriana officinalis* L. roots in natural conditions and organic production system in Latvia. *Plant Biol Crop Res*. 2021;4(1):1031.
- Safaralie A, Fatemi S, Sefidkon F. Essential oil composition of *Valeriana officinalis* L. roots cultivated in Iran. Comparative analysis between supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation. *J Chromatogr A*. 2008;1180(1-2):159-64. doi: [10.1016/j.chroma.2007.12.011](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.011)
- Pop MR, Sand C, Bobit D, Antofie MM, Barbu H, Pavel PB, et al. Studies concerning the production of volatile oil, rhizomes and roots, to different genotypes of *Valeriana officinalis* L. *An Univ Oradea, Fasc Biol*. 2010;17(2):332-5.
- Raal A, Orav A, Arak E, Kailas T, Müürisepp M. Variation in the composition of the essential oil of *Valeriana officinalis* L. roots from Estonia. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences: Chemistry*. 2007;56(2):67-74. doi: [10.3176/chem.2007.2.02](https://doi.org/10.3176/chem.2007.2.02)
- Minchán-Herrera P, Ybañez-Julca RO, Quispe-Díaz IM, Venegas-Casanova EA, Jara-Aguilar R, Salas F, et al. *Valeriana pilosa* Roots Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant Activities, and Molecular Docking Studies on Enzymes Involved in Redox Biological Processes. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(7):1337. doi: [10.3390/antiox11071337](https://doi.org/10.3390/antiox11071337)
- Korniiivskiy YI, Panchenko SV, Korniiivska VN. Valepotriaty valeriany likarskoi [Valepotriates of the *Valeriana officinalis*]. [Pharmacy of the 21st century]. *Proceedings of the 8th National Congress of Pharmacists of Ukraine; 2016 Sep 13-16; Kharkiv, Ukraine: NFAU; 2016* [cited 2023 Dec 21]. p. 99. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/4302>
- Wang C, Zheng Z, Deng X, Ma X, Wang S, Liu J, et al. Flexible and powerful strategy for qualitative and quantitative analysis of valepotriates in *Valeriana jatamansi* Jones using high-performance liquid chromatography with linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2017;40(9):1906-19. doi: [10.1002/jssc.201601406](https://doi.org/10.1002/jssc.201601406)
- Lin S, Ye J, Liang X, Zhang X, Su J, Fu P, et al. Mass spectrometric profiling of valepotriates possessing various acyloxy groups from *Valeriana jatamansi*. *J Mass Spectrom*. 2015;50(11):1294-304. doi: [10.1002/jms.3697](https://doi.org/10.1002/jms.3697)

24. González-Trujano ME, Contreras-Murillo G, López-Najera CA, Hidalgo-Flores FJ, Navarrete-Castro A, Sánchez CG, et al. Anticonvulsant activity of *Valeriana edulis* roots and valepotriates on the pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *J Ethnopharmacol.* 2021;265:113299. doi: [10.1016/j.jep.2020.113299](https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113299)
25. Wu CR, Lee SY, Chen CH, Lin SD. Bioactive Compounds of Underground Valerian Extracts and Their Effect on Inhibiting Metabolic Syndrome-Related Enzymes Activities. *Foods.* 2023;12(3):636. doi: [10.3390/foods12030636](https://doi.org/10.3390/foods12030636)
26. Karalija E, Dahija S, Demir A, Bešta-Gajević R, Zeljković SĆ, Tarkowski P. Exploring New Sources of Bioactive Phenolic Compounds from Western Balkan Mountains. *Plants (Basel).* 2022;11(7):1002. doi: [10.3390/plants11071002](https://doi.org/10.3390/plants11071002)
27. Pandey V, Bhatt ID, Nandi SK. Seasonal trends in morpho-physiological attributes and bioactive content of *Valeriana jatamansi* Jones under full sunlight and shade conditions. *Physiol Mol Biol Plants.* 2021;27(2):327-40. doi: [10.1007/s12298-021-00944-0](https://doi.org/10.1007/s12298-021-00944-0)
28. Marcucci C, Relats JMA, Bach HG, Kamecki F, Varela BG, Wagner ML, et al. Neurobehavioral evaluation and phytochemical characterization of a series of argentine valerian species. *Heliyon.* 2020;6(12):e05691. doi: [10.1016/j.heliyon.2020.e05691](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05691)



Чому ми старіємо? Основні ознаки старіння

Угіс Клетнієкс¹, Аудріус Буткявічюс², В. В. Гладішев³, С. С. Соколовський⁴

¹Латвійська асоціація довголіття, м. Юрмала, ²ГО «Міжнародний інформаційний Нобелівський центр. Офіційне представництво в Україні», м. Дніпро, ³Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна, ⁴Національний технічний університет «Дніпровська політехніка», Україна

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

Старіння – поступовий і незворотний патофізіологічний процес, що виявляється зниженням функцій тканин і клітин, значною різноманітністю патологій, пов'язаних зі старінням, включаючи нейродегенеративні й серцево-судинні захворювання, метаболічні розлади, підвищений ризик захворювань скелета та імунної системи. Хоча сучасні медичні досягнення зробили певний внесок у здоров'я людини і дали змогу значно подовжити тривалість життя, однак вони ще не в змозі запобігти різним хронічним захворюванням, що виникають разом зі старінням суспільства та є поширеними причинами інвалідності, смерті людей похилого віку.

Мета роботи – аналіз сучасних поглядів щодо причин і маніфестації процесів старіння; узагальнення цих даних сприятиме розробленню стратегії з уповільнення перебігу процесу старіння.

Тривалість життя людини тісно пов'язана зі зниженням можливостей репарації та регенерації тканин і органів. У відповідь на стрес на молекулярному, клітинному та системному рівнях генетичні, епігенетичні та регуляторні чинники зумовлюють зниження фізіологічних можливостей організму. При цьому задіяні складні молекулярні механізми (як-от вкорочення теломерів, накопичення пошкоджень ДНК, метаболічні зміни та надмірне утворення вільних радикалів), які в сукупності впливають на швидкість старіння. Зокрема, вони пригнічують проліферацію клітин, змінюють метаболізм і експресію генів, а також індукують високі рівні вільних радикалів, підтримуючи фенотип клітини, що старіє. Хоча кількість ранніх клітин, які старіють, невисока, вони можуть обмежувати регенераційну здатність стовбурових клітин тканин і призводити до накопичення клітинних пошкоджень, спричиняючи в такий спосіб вікові захворювання.

Висновки. Сучасні досягнення у високопродуктивній геноміці, транскриптоміці, протеоміці й метаболоміці дають змогу охарактеризувати, кількісно визначити тисячі епігенетичних маркерів, транскриптів, білків, метаболітів і можуть виявити загальні зміни, що відбуваються з віком, у складних організмах на молекулярному рівні. Інтеграція цих молекулярних маркерів і пов'язаних молекулярних механізмів у комплексне оцінювання біологічного віку для запобігання асоційованому з віком функціональному зниженню та захворюваності стає надзвичайно актуальною в медичній науці, тому має бути реалізована на практиці якомога швидше.

Ключові слова: старіння, природний добір, геномна нестабільність, знос теломерів, епігенетичні зміни, втрата протеостазу.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 88-98

Why do we age? The main signs of aging

Ugis Kletnieks, Audrius Butkevichius, V. V. Hladyshev, S. S. Sokolovskyi

Aging is a gradual and irreversible pathophysiological process. This is manifested in the decline of tissue and cell functions and a significant variety of pathologies associated with aging, including neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, metabolic disorders, increased risk of diseases of the skeleton and the immune system. Although modern medical advances have made a certain contribution to human health and greatly extended life expectancy, along with the aging of society, various chronic diseases are gradually emerging, which are the most important causes of disability and death of the elderly.

Aim. The aim of the work is to analyze modern ideas in the field of causes and manifestations of aging processes for the possibility of developing a strategy to slow down its course. At the molecular and cellular level, aging is a complex biological process involving the gradual deterioration of various cellular and molecular processes in the body over time.

The length of a person's life is closely related to the decrease in the possibilities of repair and regeneration of tissues and organs. In response to stress at the molecular, cellular, and systemic levels, genetic, epigenetic, and environmental regulatory factors cause a decrease in the body's physiological capabilities. They use complex molecular mechanisms that together contribute to aging. Molecular mechanisms (such as telomere shortening, accumulation of DNA damage, metabolic changes, and excessive free radical generation) strongly link various factors to the rate of aging. Collectively, these mechanisms inhibit cell proliferation, alter metabolism and gene expression, and induce

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/289224>

UDC 57.017.67.02/.04:612.67.014:616-053.9

DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.289224](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.289224)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):88-98

Keywords: aging, natural selection, genomic instability, telomere wear, epigenetic changes, loss of proteostasis.

*E-mail: gladishevww@gmail.com

Received: 17.10.2023 // Revised: 27.10.2023 // Accepted: 07.11.2023

high levels of free radicals, maintaining a senescent cell phenotype. Although the number of early senescent cells is low, they can limit the regenerative capacity of tissue stem cells and lead to the accumulation of cellular damage, thereby contributing to age-related diseases.

Conclusions. Current advances in high-throughput genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics enable the characterization and quantification of thousands of epigenetic markers, transcripts, proteins, metabolites, and can reveal general changes that occur with age in complex organisms at the molecular level. Thus, the integration of these molecular markers and related molecular mechanisms into a comprehensive assessment of biological age to prevent age-related functional decline and morbidity is becoming an increasingly pressing issue in medical science and should be implemented in practice as soon as possible.

Keywords: aging, natural selection, genomic instability, telomere wear, epigenetic changes, loss of proteostasis.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):88-98

Старіння – поступовий і незворотний патолофізіологічний процес, що виявляється зниженням функцій тканин і клітин, значною різноманітністю патологій, пов'язаних зі старінням, включаючи нейродегенеративні й серцево-судинні захворювання, метаболічні розлади, підвищений ризик захворювань скелета та імунної системи. Хоча сучасні медичні досягнення зробили певний внесок у здоров'я людини і дали змогу значно подовжити тривалість життя, однак вони ще не в змозі запобігти різним хронічним захворюванням, що виникають разом зі старінням суспільства та є поширеними причинами інвалідності, смерті людей похилого віку.

Мета роботи

Аналіз сучасних поглядів щодо причин і маніфестації процесів старіння; узагальнення цих даних сприятиме розробленню стратегії з уповільнення перебігу процесу старіння.

На молекулярному та клітинному рівнях старіння є складним біологічним процесом, який пов'язаний із поступовим погіршенням різних клітинних і молекулярних процесів в організмі. Хоча механізми старіння до цього часу остаточно не вивчено, розрізняють кілька груп теорій, згідно з якими намагаються пояснити цей процес:

1. Генетичні теорії. Їхня сутність полягає в тому, що старіння запрограмовано в генах людини. Одним із прикладів є теломерна теорія, за якою клітини людського організму мають обмежену здатність до поділу та розмножуються тому, що «захисні кришки» на кінцях хромосом, які називають теломерами, коротшають;

2. Теорії пошкодження клітин. Ці теорії основним фактором старіння визначають накопичення пошкоджень клітин і тканин. Так, теорія вільних радикалів передбачає, що їх поява з часом зумовлює пошкодження клітин. Згідно з мітохондріальною теорією, старіння зумовлює вікова дисфункція мітохондрій;

3. Гормональні теорії. Відповідно до цих теорій, саме зниження рівня статевих гормонів та гормона росту зумовлює процес старіння (теорія занепаду). У гіперфункціональній теорії порушення нормальних фізіологічних процесів пояснюють змінами активності кількох сигнальних і метаболічних шляхів (дисліпідемія, гіперінсулінемія тощо);

4. Епігенетичні теорії. Епігенетика – це зміна експресії генів, яка відбувається без змін у коді ДНК в послідовності пар основ. Епігенетичні зміни можуть впливати на

старіння шляхом змін активності генів і функцій клітини. Основна ідея – втрата інформації в результаті епігенетичного дрейфу. Розробленням цієї теорії займається професор Гарвардського університету Д. А. Сінклер [1];

5. Теорії еволюції. Згідно з цими теоріями, старіння є наслідком еволюційних процесів. Наприклад, теорія антагоністичної плейотропії передбачає, що певні гени, які мають сприятливий вплив у ранньому віці, можуть мати шкідливий вплив у подальшому житті, викликаючи старіння.

Зазначимо, що ці теорії не виключають одна одну, адже складний процес старіння зумовлений не одним фактором. Відтак, учені продовжують вивчати різні чинники, пов'язані з механізмами старіння, а також розробляти терапевтичні заходи та стратегії, що сприяють підвищенню якості й тривалості життя людини.

Наука все ще шукає першу молекулу життя (перший реплікатор), яка мала бути виникнути, щоб копіювати себе і розвиватися. Вважають, що весь відомий живий світ походить від одного спільного предка LUCA (Last Universal Common Ancestor), рушійною силою еволюції є природний добір, а результатом – сформована людина. Природний добір формує організми для оптимального виживання й успішного розмноження. Мутації, що викликають проблеми виживання та відтворення, не передаються майбутнім поколінням. Смертність при народженні та в ранньому віці від несприятливих ознак (мутацій) є вищою, ніж у репродуктивному періоді життя. Риси, які мають згубний вплив наприкінці життя, буде передано наступним поколінням, вони не зникнуть у ході еволюції. Сила природного добору є мірою того, наскільки він впливає на виживання чи розмноження; з віком вона зменшується.

Еволюційна теорія старіння ґрунтується на зменшенні сили природного добору. Для більшості організмів природний світ є небезпечним, оскільки в ньому багато хижаків, патогенів, аварій та інших загрозливих факторів. Отже, в природних популяціях деякі особини гинуть, не доживши до старіння. З віком сила природного добору зменшується і не впливає на продуктивність особин у пізньому віці. Отже, добір не усуває сприятливих впливів і не в змозі нейтралізувати шкідливий вплив віку. Наприклад, корисна чи шкідлива мутація виникла лише після припинення репродуктивного періоду, коли вона не вплине на функції розмноження та не буде передана нащадкам. Якщо мутація виникла раніше, наприклад під час репродуктивного періоду, то її вплив на вік не буде

помітним для селекції. Екологічно індукована смертність є високою, тому особини, які б продемонстрували мутацію, могли вже померти.

Згідно з гіпотезою антагоністичної плейотропії, шкідливі фенотипічні ефекти генів, що спостерігають в особин старшого віку, не зникають, оскільки мають певні переваги в «молодості» – репродуктивному віці.

Ознаки старіння, або біомаркери. Донині не визначено конкретний клінічний параметр, який би доказово опишував процес старіння. Органи людини в різному віці функціонують неоднаково, що зумовлено перенесеними захворюваннями, способом життя та іншими факторами. Щоб зрозуміти процеси старіння в організмі, необхідно усвідомити, яким чином воно відбувається на рівні органів, тканин, клітин і молекул. На молекулярному рівні процеси старіння помітні набагато швидше, ніж на рівні органів або всього організму.

Для того, щоб можна було зробити висновки щодо процесів старіння, потрібні точні критерії – ознаки старіння, специфічні біомаркери. Розглядають ідею щодо можливої ідентифікації таких конкретних ознак, і спочатку було визначено шість ознак (біологічних особливостей) раку, що спостерігають при розвитку пухлини [2,3,4].

Ознаки старіння об'єднані концепцією, що описує фундаментальні клітинні та молекулярні зміни, які спричиняють процеси старіння. Ці особливості описують основні біологічні зрушення, що відбуваються на клітинному рівні і, як вважають дослідники, лежать в основі старіння тканин і органів. Перелік ознак старіння запропонований у 2013 році науковцями в галузі геронтології, він став фундаментом для розуміння складності цих процесів старіння.

Кожна ознака в ідеалі має відповідати таким критеріям:

1. має з'явитися при нормальному старінні;
2. її експериментальне посилення має прискорювати старіння;
3. її експериментальне послаблення має затримувати нормальний процес старіння і, таким чином, продовжувати тривалість здорового життя.

Щодо останнього критерію, то його досягти найскладніше, навіть якщо він стосується лише одного аспекту старіння. Ознаки старіння є взаємопов'язаними, тобто експериментальна зміна однієї конкретної ознаки може впливати на інші [5].

Перелік ознак старіння включає:

1. Нестабільність геному. Ця особливість полягає в накопиченні пошкоджень ДНК і мутацій у клітинах із часом, що може спричинити дисфункцію клітин і тканин;
2. Укорочення теломерів. Теломери – захисні «ковпачки» на кінцях хромосом, які вкорочуються в клітинах. Оскільки теломери стають коротшими, клітини втрачають здатність до поділу та регенерації, відбувається загибель клітин, старіння (стан, у якому зупиняється ріст, – реплікативне старіння);
3. Епігенетичні зміни. До них належать зміни в структурі ДНК і пов'язаних із нею білках, що може впливати на експресію генів. З часом епігенетичні зміни можуть

порушити нормальну регуляцію генів і призводять до старіння;

4. Порушення протеостазу. Протеостаз передбачає механізми стабілізації правильно складених білків, а також механізми деградації білків. Накопичення нескладених, складних або пошкоджених білків може порушити функцію клітин і зумовити розвиток окремих вікових захворювань;

5. Порушення розпізнавання поживних речовин. Сигнальні шляхи поживних речовин у клітинах, такі як інсулін/IGF-1 і mTOR, є критично важливими для координації клітинного метаболізму та росту. Різні шляхи, що визначають внутрішньоклітинний і позаклітинний рівні, інтегруються та координуються за допомогою гормональних сигналів. При надлишковому поглинанні поживних речовин визначають анаболізм і зберігання, а дефіцит запускає гомеостатичні механізми, наприклад, мобілізацію внутрішніх запасів через аутофагію. Шляхи детермінації поживних речовин при метаболічних захворюваннях людини зазвичай є дерегульованими. Порушення регуляції цих сигнальних шляхів в осіб похилого віку може призвести до змін у споживанні поживних речовин і пошкодити клітинний гомеостаз;

6. Мітохондріальна дисфункція. Мітохондрії – клітинні органели, що виробляють енергію. З віком погіршується функція мітохондрій, збільшується кількість вільних радикалів – активних форм кисню, порушується вироблення енергії, що призводить до змін клітинного метаболізму;

7. Старіння клітин (сенесценція). Старіння клітин є незворотною зупинкою росту. Клітини можуть увійти в цей стан у відповідь на стрес або пошкодження. Накопичення клітин, що старіють, з часом може спричинити дисфункцію тканин і запалення;

8. Виснаження стовбурових клітин. Стовбурові клітини мають здатність регенерувати та відновлювати тканини. Однак у міру дорослішання здатність стовбурових клітин до поділу і диференціювання знижується, а отже знижується здатність до регенерації тканин;

9. Змінені міжклітинні зв'язки. Клітини взаємопов'язані за допомогою різних сигнальних молекул. З віком зв'язок між клітинами може порушуватися, що спричиняє дисфункції тканин, розлади і запалення.

Сукупний вплив цих механізмів на тканини і рівні організму спричиняє процес старіння, зумовлює функціональне зниження, підвищену вразливість до хвороб і, зрештою, призводить до смерті.

Ці особливості не є незалежними одна від одної і часто взаємодіють, посилюючи і прискорюючи процеси старіння. Розуміння цих ознак є важливим для планування втручань і терапій, спрямованих на конкретні аспекти старіння, а також на терапевтичні цілі, що сприятиме більш здоровому старінню в майбутньому.

Основними (первинними) ознаками старіння вважають найважливіші пошкодження клітин і драйвери прискореного старіння: геномну нестабільність, вкорочення теломерів, епігенетичні зміни та порушення протеостазу.

Нестабільність генома. Пошкодження ДНК впливає на більшість аспектів старіння (якщо не на всі), що робить його загальною причиною цього процесу. Ідентифікація пошкодження ДНК та його зв'язку зі старінням дасть уявлення про втручання для запобігання віковим дисфункціям і захворюванням [6].

Цілісності та стабільності генома загрожують екзогенні (хімічні, фізичні та біологічні фактори), а також ендогенні чинники (як-от помилки реплікації ДНК, дефекти сегрегації хромосом, процеси окиснення та спонтанні гідролітичні реакції). Широкий діапазон генетичних дефектів, зумовлених цими зовнішніми або внутрішніми ураженнями, включає точкові мутації, делеції, транслокації, вкорочення теломерів, розриви одинарної та подвійної спіралі, хромосомні перебудови, хромосомні втрати, дефекти ядерної архітектури та вірусні інтеграційні порушення генів або транспозонів. Усі ці молекулярні зміни та спричинені ними геномний мозаїцизм можуть призводити і до нормального, й до патологічного, прискореного старіння [7,8].

У кожній клітині організму розриви та відновлення ДНК відбуваються тисячі разів на день і здебільшого відновлення відбувається так само. Протягом еволюції організми виробили складний набір механізмів відновлення та підтримки ДНК для боротьби з пошкодженням ядерної ДНК і мітохондріальної ДНК (мтДНК), а також забезпечення належної архітектури та стабільності хромосом. Коли людина старіє, мережі репарації ДНК втрачають ефективність, що збільшує накопичення геномних пошкоджень і вивільнення ДНК у цитозоль за межами клітинного ядра. Поглибивши розуміння цих процесів, можна вибудовувати нові терапевтичні стратегії.

Геномна нестабільність є важливою причиною старіння клітин у багатьох видів. Це призводить до дерегуляції експресії генів і, як наслідок, прискореного старіння клітин, припинення їх росту (старіння) і, зрештою, до загибелі. Ендогенне пошкодження ДНК вважають основним біомаркером геномної нестабільності, зокрема розривів подвійної спіралі ДНК. Пошкодження ДНК активує відповідь на пошкодження ДНК і шляхи контрольних точок клітинного циклу – сигнальні шляхи p53-p21 і p16INK4a-pRb. У такий спосіб клітинний цикл блокується, щоб запобігти передачі дефектної генетичної інформації клітинам потомства [9,10].

Ядерна ДНК клітин старих людей накопичує велику кількість соматичних мутацій. Інші типи пошкоджень, як-от хромосомна анеуплоїдія та варіації кількості копій, також пов'язані зі старінням. Усі ці зміни ДНК можуть вплинути на важливі гени та шляхи транскрипції, що призведе до дисфункції клітин, та може зрештою порушити цілісність тканин і гомеостаз організму. Це особливо важливо, коли пошкодження ДНК впливає на стовбурові клітини, пригнічуючи їхню роль у процесах відновлення тканин або призводячи до їх виснаження, що, у свою чергу, спричиняє старіння та підвищує сприйнятливості до вікових патологій. Мутаційне навантаження на гістологічно нормальні тканини людини є досить

значним. Наприклад, нормальні епітеліальні клітини стравоходу молодих людей уже містять сотні мутацій, а в середньому віці можуть містити понад 2000 мутацій на клітину [11].

Накопичення мутацій ДНК може відбуватися протягом усього життя. Їх повне відновлення потребувало б надмірного витрачання енергетичних ресурсів, що пов'язані з повним усуненням усіх екзогенно індукованих геномних ушкоджень і вирішенням ендогенних проблем. Клітини віддають перевагу виживанню над цілісністю генома. Ці дані також свідчать, що, подібно до канцерогенезу, самих мутацій драйверів може бути недостатньо для прискорення старіння. Їм потрібне мікросередовище, створене немутагенними факторами сприяння. Порівняльний аналіз ландшафту мутацій у видів ссавців показав, що видоспецифічна швидкість накопичення соматичних мутацій обернено корелює з тривалістю життя [12]. Поки немає чітких доказів того, що нормальна швидкість мутації відповідає за старіння, але багато досліджень показали, що недоліки у відновленні пошкоджень ДНК можуть спричинити старіння. Отже, зміни у механізмах відновлення ДНК прискорюють процеси старіння і лежать в основі кількох прогероїдних синдромів людини [13].

На відміну від ядерної ДНК, мтДНК є кільцевою і містить лише екзони, не має захисту від гістонів й ефективної системи відновлення генів. Ці властивості роблять мтДНК більш сприйнятливою до мутацій, ніж ядерну ДНК. Крім того, враховуючи роль мітохондрій як клітинних електростанцій, дихальний ланцюг може відчувати витік електронів високої енергії, що є основним джерелом окиснювального стресу та наступного збільшення утворення мутацій у мтДНК [14]. Зменшену кількість копій мтДНК і збільшену кількість мутацій мтДНК визначають у різних тканинах організмів, які старіють [15]. Окиснювальний стрес також викликає вивільнення мтДНК у цитоплазму. Вивільнена мтДНК може зв'язуватися з cGAS (циклічною GMP-AMP-синтазою) і брати участь у старінні клітин, активуючи сигнальний шлях STING (стимулятор гена інтерферону). Сигнальний шлях STING тісно пов'язаний із SASP (секреторний фенотип, асоційований зі старінням). Сигнальний шлях cGAS-STING є ключовим медіатором запалення в умовах інфекції, клітинного стресу та пошкодження тканин [16]. Крім того, мтДНК експортується позаклітинно та циркулює в інтерстиціальній та спинномозковій рідині. Циркулююча позаклітинна мтДНК є новим сигналом для мітохондріальної комунікації між дистальними тканинами. Це пов'язано з неврологічними розладами та системним запаленням [17].

Зміни в структурі nucleus accumbens можуть призвести до старіння. Білки Lamin A/C, продукти генів LMNA, насамперед lamin A і C, є основними компонентами ядерної пластини та мають важливе значення для підтримки правильної ядерної структури. Вони є важливими компонентами складної білкової сітки, яка лежить в основі внутрішньої ядерної мембрани та забезпечує жорсткість

ядра й цитозоллю. Ген LMNA містить інструкції для створення кількох дещо різних білків, які називаються ламіни. Сотні мутацій гена LMNA виявлені при кількох дегенеративних захворюваннях, включаючи нейропатії, м'язові дистрофії, ліподистрофії та синдром Хатчінсона–Гілфорда. Дефіцит ламіна В1 також є загально визнаною ознакою клітинного старіння, оскільки рівень ламіна В1 знижується зі старінням.

Кодуюча частина ДНК – гени – становлять лише 1,5 % (екзони), а решта 98,5 % (інтрони, або «сміттєва ДНК») – це некодуєча частина. Майже 50 % генома людини складається з мобільних генетичних елементів повторюваної ДНК («стрибаючих» генів), які не кодують білки [18].

Дослідження показали, що одна з небажаних послідовностей ДНК, зокрема VNTR2-1, справді «працює» на посилення активності гена теломерази, а ген теломерази є активнішим у людей із довшими послідовностями VNTR2-1. Однак менша послідовність не обов'язково означає меншу тривалість життя. Це означає нижчу активність гена теломерази та коротшу довжину теломерів, що може зменшити ймовірність розвитку раку [19]. Це відкриття свідчить, що «сміттєва ДНК» також зумовлює генетичне різноманіття старіння. Нещодавно з'ясовано, що довші теломери пов'язані з вищим ризиком раку та інших захворювань, і це спростовує гіпотезу про те, що довгі теломери важливі для довголіття [20]. Клітини, які зазнають злоякісної трансформації, мають «обійти» реплікативне старіння та можливу клітинну смерть, пов'язану з прогресивним укороченням теломерів (обмеження Хейфліка стверджує, що клітини можуть ділитися 50–60 разів); це відбувається в результаті послідовного поділу клітин [21,22]. Для цього злоякісні клітини реактивують та експресують теломеразу, щоб подовжити свої теломери й досягти клітинного безсмертя, «прикметної ознаки раку». У цьому випадку теломераза є біомаркером і терапевтичною мішенню для діагностики та лікування потенційних хворих на рак [23].

Серед мобільних елементів (транспозонів) генома людини розрізняють ДНК-транспозони і ретротранспозони. Ретротранспозони складаються з довгих вкраплених ядерних елементів (LINE – Long interspersed ядерних елементів), які кодують необхідні білки для ретротранспозиції, і SINE (Short interspersed ядерних елементів), які є короткими некодувальними РНК, що використовують білковий механізм LINE. Транспозони ДНК рухаються за механізмом «вирізання / вставлення», а ретротранспозони відтворюються за механізмом «копіювання / вставлення», використовуючи РНК (ядерну зворотну транскриптазу) як проміжну речовину, що названа ретротранспозицією [24]. Ретротранспозони здатні викликати сильний мутагенез; наприклад, ретротранспозонні шторми можна спостерігати при хворобі Альцгеймера [25]. Під час старіння та хвороби упаковка хроматину вже не така щільна, і транспозони активуються. З цих причин ретротранспозони також називають супермутагенами. Щільна упаковка гетерохроматину пригнічує активність «стрибаючих» генів транспозонів, тим самим захищаючи

від вікових захворювань, включаючи рак. Ці «стрибаючі» гени, «вбудовуючись» між важливими генами-супресорами (TP53, BRCA1, BRCA2, INK4, PTEN, APC, MADR2, DPC4 тощо), можуть викликати мутації в них і спричинити рак. Ретротранспозони активуються в клітинах, що старіють, протягом усього життя та зумовлюють шкідливі ефекти через генетичні й епігенетичні зміни, а також через активацію імунних шляхів. Нуклеїнові кислоти, які виробляють ретротранспозони, ідентифікуються як чужорідна ДНК у клітині, і після активації сигнального шляху cGAS-STING відбувається експресія інтерферонів [26].

Дослідження показали, що покращені механізми відновлення ДНК корелюють із довголіттям. У багатьох видів ссавців сиртуїн-6 (SIRT6) відіграє важливу роль у репаративній ефективності ДНК. Надмірна експресія SIRT6 у мишей зменшує геномну нестабільність, покращує відновлення дволанцюгових розривів ДНК і продовжує тривалість життя, хоча інші пояснення, зокрема покращення метаболізму глюкози та відновлення енергетичного гомеостазу, можуть бути залучені для пояснення впливу SIRT6 на довголіття [27].

Характеристика аеля столітнього SIRT6 (centSIRT6) засвідчує, що він є більш потужним супресором ретротранспозонів LINE1 (мобільний елемент, 17 % ДНК людини – довгий вкраплений ядерний елемент 1), який забезпечує посилене відновлення подвійних розривів ДНК і сильніше вбиває ракові клітини порівняно з нормальним диким типом (диким типом) SIRT6. Зауважимо, що centSIRT6 показав слабкішу деацетилазну активність, але сильнішу активність mADPr (моно-АДФ-Д-рибоза) при різних концентраціях NAD⁺ і субстратах. Крім того, centSIRT6 мав сильнішу взаємодію з Lamin A/C (LMNA), що пов'язано з посиленням рибозилуванням LMNA. Результати свідчать, що підвищена експресія SIRT6 сприяє довголіттю людини шляхом покращення підтримки стабільності генома, підвищення активності mADPr і посилення взаємодії з LMNA.

Ці висновки підтверджують, що втручання, спрямовані на зменшення мутаційного тягаря ядерної ДНК, покращення або перенаправлення механізмів її відновлення, можуть затримати старіння та виникнення вікових захворювань, однак додаткових доказів досі немає.

Лікування нуклеозидними інгібіторами зворотної транскриптази (НІЗТ), як-от ламівудин та ставідин, що пригнічують або послаблюють ретротранспозицію, подовжує тривалість життя мишей без гена Sirt6 і покращує тривалість життя внаслідок покращення фенотипів кісток і м'язів. Так само лікування старих мишей дикого типу НІЗТ знижує рівень маркерів пошкодження ДНК. Крім того, скерованість на ретротранспозони антисмисловими олігонуклеотидами збільшує тривалість життя прогероїдних мишей [28].

НІЗТ розроблено для лікування синдрому набутого імунodefіциту (СНІД), викликаного інфекцією вірусу імунodefіциту людини (ВІЛ). Дослідники припускають, що препарати НІЗТ можуть бути ефективними в лікуванні хвороби Альцгеймера шляхом інгібування нейрозапа-

лення. Інтенсивно вивчають можливості застосування НІЗТ за новими показаннями, що пов'язані з процесами старіння. Наприклад, основною метою дослідження, що нині продовжують у США (ознайомитись можна за покликанням: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT04500847>), є оцінювання безпеки та переносності емтрицитабіну в людей похилого віку з діагностованими легкими когнітивними порушеннями або ранньою появою хвороби Альцгеймера. Це дослідження здійснюють за участю пацієнтів із хворобою Альцгеймера легкого та середнього ступеня тяжкості, включаючи осіб із легкими когнітивними порушеннями. Суб'єкти повинні мати позитивний результат на амілоїдну патологію, бути віком від 50 до 85 років і, крім клінічного діагнозу хвороби Альцгеймера з раннім початком, бути здоровими, як визначено дослідником на основі історій хвороби. Учасники мають бути негативними щодо ВІЛ/ВГВ і пройти всі скринінгові оцінки на основі критеріїв «залучення / виключення». Майбутні клінічні випробування серед людей похилого віку з препаратами, що спрямовані на різні функції ретротранспозонів, можуть визначити нові стратегії втручання для уповільнення процесу старіння та запобігання віковим патологіям.

Епігенетичні зміни. Інформаційна теорія старіння стверджує, що втрата епігенетичної інформації, особливо зміни в процесах метилювання, є основним рушієм процесу старіння. Зв'язок між втратою епігенетичної інформації та захворюванням ретельно досліджують. Порушення епігенетичної інформації призводить до старіння, а відновлення цілісності епігенома усуває ці ознаки старіння. Епігенетика стосується змін у фенотипі або експресії генів, спричинених механізмами, відмінними від змін у послідовності пар основ ДНК. Епігенетичні механізми включають метилювання ДНК, модифікації гістонів, ремоделювання хроматину та транскрипційні зміни, індуковані некодувальними РНК (нкРНК) [29]. Різноманітність епігенетичних змін, що зумовлюють старіння, включає зміни в процесах метилювання ДНК, аномальні посттранскрипційні модифікації гістонів, аберрантне ремоделювання хроматину та дерегульовану функцію нкРНК. Ці регуляторні та часто оборотні зміни впливають на експресію генів та інші клітинні процеси, що призводять до виникнення та прогресування низки вікових патологій (як-от нейродегенерація, метаболічний синдром та захворювання кісток). Широкий спектр ферментних систем бере участь у встановленні та підтримці епігенетичних процесів. Ці ферменти включають ДНК-метилтрансферази, гістонові ацетилази, деацетилази, метилази та деметилази, а також білкові комплекси, що залучені в ремоделювання хроматину, синтез та утворення нкРНК.

Метилювання ДНК регулює експресію генів шляхом залучення білків, що беруть участь у репресії генів, шляхом інгібування зв'язування факторів транскрипції з ДНК. Метилювання в п'ятій позиції цитозину (5mC) у ДНК є основною епігенетичною модифікацією у ссавців; 5-гідроксиметилцитозин (5hmC) є стабільною модифікацією основи ДНК, яка виникає з 5-метилцитозину

через сімейство з 10–11 білків транслокації. Обидві ці модифікації діють як епігенетичні маркери. Порівняно з клітинами, що спочивають і проліферують, клітини, які старіють, мають менше модифікацій цитозину. Нещодавнє дослідження засвідчило, що дезамінування та окисне пошкодження 5mC – основні фактори соматичного мутагенезу, який змінюється зі старінням у ссавців. Відомо, що метилювання ДНК змінюється з віком у процесі, який називається «епігенетичний дрейф».

Ландшафт метилювання ДНК людини змінюється кілька разів. Ранні дослідження описували пов'язане з віком глобальне гіпометилювання, але наступні свідчать, що специфічні локуси, включаючи кілька генів-супресорів пухлин і цільових генів Polycomb, стають гіперметилюваними з віком. Клітини пацієнтів і мишей із прогероїдними синдромами мають зміни метилювання ДНК, подібні до тих, що виявляють під час нормального старіння. Функціональні наслідки більшості цих вікових епімутацій неясні. Більшість змін стосуються інтронів і міжгенних ділянок.

Метилювання ДНК зменшується під час старіння, насамперед у ділянках, що містять гетерохроматинові повтори, а гіперметилювання відбувається в CpG-ділянках промоторів. У 2013 році Стів Горват виявив кореляцію між метилюванням ДНК і віком людини, створивши перший епігенетичний годинник [30]. Цей годинник вимірює біологічний вік і прогнозує тривалість життя. У 2018 році Левін розробив другий епігенетичний годинник «DNAm PhenoAge». Цей годинник підтвердив внутрішні зв'язки між епігенетичним годинником і деякими механізмами старіння, як-от активація прозапальних та інтерферонових сигнальних шляхів, механізми транскрипції та трансляції, відповідь на пошкодження ДНК [31]. Усе більше досліджень підтверджують, що зміни, пов'язані зі старінням, можна виявити за допомогою метилювання ДНК. Так, окремі науковці доводять, що епігенетичні годинники можуть сприяти розумінню процесу старіння мозку та передбачити ризик деменції. Крім того, біологічний годинник людей із жировою дистрофією печінки працює швидше, ніж зазвичай, а годинник людей-довгожителів, які не мали такої проблеми, – повільніше. Дослідження, що передбачало дієту, фізичну активність, мамографію (дослідження DAMA) і покращення харчових звичок, уповільнило годинник ДНК mGrimAge і сприяло здоровому старінню у жінок, які брали участь у дослідженні [32,33]. Метилювання ДНК крові чутливе до фізіологічних змін, які відбуваються в кількох системах органів, і D. W. Belsky et al. визначили міру метилювання ДНК крові. Так, DunedinPoAm (DunedinPoAm – Dunedin(P)ace(o)f(A)ging(m)ethylation) оцінює швидкість старіння пацієнтів. Автори виявили, що DunedinPoAm пов'язаний із підвищеним ризиком хронічних захворювань і смертності у літніх чоловіків. Крім того, підлітки, які виростили в сім'ях з нижчим соціально-економічним статусом, частіше мали DunedinPoAm, що часто передбачало меншу тривалість здорового життя [34].

Хроматин модулює генну активність, регулюючи доступ до геномного матеріалу через розташування гістонів і посттрансляційні модифікації [34]. Локалізація, вихід із нуклеосом та посттрансляційна модифікація основних нуклеосомальних білків (H2, H3, H4) відіграють провідну роль у регуляції активності генів [35,36]. Глобальна втрата гістонів у тканинах та їхні посттрансляційні модифікації тісно пов'язані зі старінням. Втрата гістону лінкера H1.4 впливає на початкову транскрипцію та доступність хроматину [37]. Підвищена експресія гістонів подовжує тривалість життя дрозодів. Підвищене ацетилювання гістону H4K16 або триметилювання H3K4, знижене триметилювання H3K9 або H3K27 виявляють у фібробластах людей похилого віку та пацієнтів із прогероїдними синдромами. Ці модифікації гістонів можуть призвести до змін транскрипції, втрати клітинного гомеостазу та пов'язаного з віком зниження метаболічної активності.

Дефекти метилювання гістонів і ДНК були причетні до кількох захворювань, включаючи рак. Ці дефекти можуть впливати на регуляцію довжини теломерів, а отже зумовлювати фенотип захворювання.

Зазначимо, що втрата мітки гетерохроматину (перетворюється на еухроматин, а ДНК стає активною) на теломерах призводить до їх подовження [38]. Гістондеметилази модулюють тривалість життя, спрямовуючись на ключові шляхи довголіття, як-от сигнальний шлях інсуліну / інсулінозалежного фактора росту-1 (IGF-1).

Доцільно продовжувати дослідження модифікаторів гістонів як частини терапевтичної стратегії проти вікового погіршення когнітивних функцій, хоча залишається незрозумілим, яким чином ці втручання впливають на старіння та довголіття: через суто епігенетичні механізми, долучаючись до відновлення ДНК і геномної стабільності, чи й через транскрипційні зміни, що здійснюють вплив на метаболічні або сигнальні шляхи.

На додаток до модифікаторів ДНК і гістонів кілька хромосомних білків і факторів ремоделювання хроматину, як-от білок гетерохроматину 1a (HP1a), білки групи Polycomb, що беруть участь у відновленні геномної стабільності ДНК, також можуть модулювати старіння [39]. Зміни в цих епігенетичних факторах призводять до глибоких змін в архітектурі хроматину, включаючи глобальну втрату та перерозподіл гетерохроматину, що є частими явищами у «старих» клітинах. Причинова роль цих змін хроматину в старінні була ретельно вивчена на безхребетних, у яких мутації втрати функції в HP1a зменшують тривалість життя, а його надмірна експресія збільшує здоров'я та довголіття [40]. Подібні дослідження на ссавцях все ще обмежені, але у більшості досліджень встановлено, що релаксація гетерохроматину призводить до старіння та вікових патологій, а підтримка гетерохроматину (щільне упакування хроматину) сприяє довголіттю.

Крім структурних аномалій, числові аномалії, зокрема анеуплоїдія та гетероплоїдія, також зумовлюють старіння [41,42]. Числові аномалії, також відомі як анеуплоїдія, включають аутосоми (хромосоми 1-22), а також гомосоми (X- або Y-хромосоми) [43]. На відміну від молодих

людей, хромосомні делеції значно збільшені в культивованих лімфоцитах людей похилого віку. Показано, що аномальні конституційні (мейотична рекомбінація) і набуті («стирання» теломерів) істотно впливають на формування анеуплоїдії. З одного боку, згідно з гіпотезою мимовільної втрати, сам організм має підмножину аутосом зі спадковими відмінностями за частотою випадків набутої анеуплоїдії, і схильність цієї хромосоми до набуття анеуплоїдії зростає з віком. З іншого боку, відмінності за швидкістю зношування теломерів через окиснювальний стрес можуть призвести до втрати хромосом, і конкретний механізм може бути пов'язаний із локалізацією полімерів у мітотичних клітинах.

Y-хромосома є найменшою хромосомою і містить найменшу кількість генів. Її біологічні функції вивчено невичерпно. Дослідження показали, що з віком багато чоловіків починають втрачати Y-хромосоми в клітинах крові, що пов'язано з багатьма проблемами зі здоров'ям, включаючи хвороби серця, рак і підвищений ризик смерті. Деякі дослідження показують, що втрата Y-хромосоми може допомогти пояснити, чому чоловіки, як правило, помирають у трохи молодшому віці, ніж жінки, або чому існують гендерні відмінності при деяких видах раку. В останніх дослідженнях вивчали зв'язок між кількома типами раку та втратою Y-хромосоми [44]. Особливий ген Y-хромосоми, відомий як KDM5D, підвищує ймовірність метастазування певних типів колоректального раку. В іншому дослідженні встановлено, що коли деякі клітини втрачають Y-хромосому, пухлини сечового міхура краще уникають впливу імунної системи, і ризик агресивного раку сечового міхура зростає. Один із співавторів праці [45] Ден Теодореску, доктор медичних наук, директор онкологічного центру Cedars-Sinai, зауважив: «Це дослідження вперше продемонструвало зв'язок між втратою Y-хромосоми та реакцією імунної системи на рак. Втрата Y-хромосоми дає змогу клітинам раку сечового міхура уникати дії імунної системи та дуже агресивно рости».

Дослідники також повідомляють, що коли Y-хромосому видаляли у мишей-самців, то тварини гинули раніше, ніж її носії, можливо, через те, що їхня серцева тканина ставала фіброзною та втрачала еластичність [46,47]. На думку генетиків, це найкращий доказ того, що втрата Y-хромосоми шкодить здоров'ю.

Механізми, що лежать в основі дії всіх названих епігенетичних факторів, збігаються в модуляції рівнів експресії генів. Старіння викликає збільшення транскрипційного шуму та аномалії у продукуванні та дозріванні багатьох мРНК (інформаційних РНК). Неправильна функція гена (експресія) через змінену епігенетичну регуляцію впливає на його активність, через транскрипцію – на мРНК, через трансляцію – на виробництво білка в рибосомах (протеом) [48,49]. Порівняння тканин молоді людини та особи похилого віку на основі мікрочипів дало змогу виявити пов'язані з віком транскрипційні ознаки в результаті епігенетичних змін, що відбуваються під час старіння.

Вплив довкілля також викликає зміни в регуляції генів через зміни метилювання ДНК і модифікацію гістонів. Він спричиняє епігенетичні зміни, пов'язані зі старінням, включаючи прискорення епігенетичних (біологічних) годинників. Зміни в експресії генів у результаті старіння впливають на певні біологічні процеси, як-от запалення, згортання білка, регуляція позаклітинного матриксу і мітохондріальна функція, що значно поширені та дерегульовані під час старіння [50,51]. Загальні моделі експресії генів (патерни) під час старіння в різних тканинах можуть допомогти скерувати майбутні втручання, спрямовані на покращення здоров'я й тривалості життя. Ефективність і точність транскрипції та посттранскрипції знижуються зі старінням, і знання щодо негативних наслідків цього щодо протеома (точного синтезу білка) відкривають нові можливості для стратегій довголіття.

Відновлення епігенетичної інформації (репрограмування епігенома). Саме з відновленням епігенетичної інформації пов'язані великі надії на майбутнє омолодження організму, породжуючи навіть припущення про досягнення порогу безсмертя. Шінья Яманака та Джон Б. Гердон, лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини 2012 року, виявили, що зрілі спеціалізовані клітини можна перепрограмувати, щоб вони стали незрілими клітинами, здатними розвиватися в будь-яку тканину тіла. Їхні відкриття революціонізували традиційне розуміння розвитку клітин і організмів. Названі Ш. Яманакою фактори транскрипції (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) експресуються в ембріональних стовбурових (ES) клітинах, і їх надмірна експресія може індукувати плюрипотентність у соматичних клітинах і миші, й людини. Це свідчить, що названі фактори регулюють мережу сигнальних шляхів розвитку, необхідних для плюрипотентності клітин [52].

У лабораторіях Бостона здійснили експеримент, під час якого в старих сліпих мишей вдалося відновити зір, розвинути мозок, який став молодшим і розумнішим, відновити м'язову й ниркову тканини. Експерименти показали, що старіння є оборотним процесом, який можна рухати «вперед і назад за бажанням»; зокрема, на цьому наголосив експерт із запобігання старінню Д. Сінклер, професор генетики в Інституті Блаватника Гарвардської медичної школи та співдиректор Центру П. Ф. Гленна. У публікації, яка містить результати роботи його лабораторії та досліджень інших міжнародних учених, він зауважив, що «наші організми зберігають резервну копію нашої молодості, яку можна стимулювати до регенерації» [53].

Зважаючи на ці відкриття, у пошуки «джерела вічного життя» вкладають величезні кошти. Одним із прикладів є Altos Labs (<https://altoslabs.com>). Засновник і колишній генеральний директор Amazon зробив величезні інвестиції в Altos Labs, біотехнологічний стартап, який зосереджений на «програмуванні відновлення клітин для відновлення їхнього здоров'я та стійкості, запобігання хворобам, трансформації медицини». За даними лондонської Financial Times, у перший день роботи Altos Labs отримала 3 мільярди доларів фінансування.

Втрата протеостазу. Старіння та різні нейродегенеративні захворювання (хвороба Альцгеймера, хорея Гентінгтона, бічний аміотрофічний склероз, хвороба Паркінсона, катаракта) пов'язані передусім з порушенням протеостазу, що призводить до накопичення неправильно згорнутих білків. Окиснені, гліковані або убіквітовані білки часто утворюють агрегати – внутрішньоклітинні включення або позаклітинні амілоїдні бляшки. Втрата або зміна протеостазу може призвести до аномальної агрегації білка, спричиняючи такі патології, як метаболічні розлади, хвороби серця, нейродегенерація (бета-амілоїд, тау-білок, альфа-синуклеїн), механічна крихкість (слабкість сполучної тканини) і рак. Вплив подразників із довкілля або стресу, старіння або фізіологічні зміни є факторами, що можуть змінити функціональну активність мережі протеостазу.

Клітини людини експресують понад 10 000 різних білків [54], більшість із них мають згорнутися у чітко визначені тривимірні структури, щоб забезпечити безліч клітинних функцій. Незважаючи на те, що нативна конформація певного білка кодується його амінокислотною послідовністю [55], багато білків у клітині потребують допомоги молекулярних шаперонів та інших факторів для ефективного згортання та згортання в біологічно відповідний часовий масштаб [56]. Крім того, для нормального функціонування білки часто мають підтримувати структурну гнучкість або містити значні неструктуровані ділянки, що призводить до їх неправильного згортання й агрегації [57]. Навіть стабільно згорнуті протеїни можуть розгортатися і, можливо, агрегувати в стресових умовах, як-от за високих температур. Врешті білки стають остаточно неправильно згорнутими або більше не потрібні функціонально, і вони мають бути розщеплені, щоб уникнути шкідливих наслідків їхньої постійної присутності. Отже, підтримка інтактного протеома (протеостазу) потребує не тільки суворого контролю початкового виробництва та згортання білка, але й підтримки його конформації, контролю кількості та субклітинної локалізації і, зрештою, руйнування шляхом деградації.

На кожному з цих етапів працює складна мережа протеостазу, щоб підтримувати збалансований протеом. Порушення протеостазу призводить до пристосувальних змін у клітині. Щоб впоратися з цією ситуацією, клітини розробили кілька механізмів для зменшення неправильного згортання й усунення неправильно згорнутих білків. Одним із таких механізмів є утворення шаперонів, які зв'язуються з незавершеними пептидними ланцюгами. Це запобігає передчасному згортанням пептидів і допомагає їм згорнутися в правильну форму. У мережі протеостазу діють різні класи молекулярних шаперонів. Ці фактори забезпечують згортання *de novo* в переповнених клітинних середовищах і підтримують білки в розчинному, неагрегованому стані. Крім того, в умовах, що негативно впливають на згортання або розчинність, деякі шаперони діють на деградацію та просторове секвестрування неправильно складених білків, таким чином

захищаючи решту протеома від дрейфу від небажаних взаємодій [58].

Шаперони також зменшують денатурацію білка, яка відбувається, коли клітини відчувають тепловий шок, тому ці білки також називають білками теплового шоку [59,60,61]. Дослідження засвідчили, що дисрегуляція шаперонів знижує рівні розчинних білків теплового шоку (Hsp70, Hsp90 і Hsp40) у мишачих і нематодних моделях хвороби Альцгеймера. Крім того, агреговані білки, які накопичуються в мозковій тканині, зазнають убіквітування, а неправильно згорнуті білки скеровуються на деградацію в системі убіквітин – протеосома та на аутофагосомно-лізосомний шлях [62,63], зменшуючи нейротоксичність. Шляхи аутофагії також пригнічують агрегація білків [64,65,66].

Дефекти в деяких шляхах протеостазу також призводять до спадкових захворювань, наприклад, кістозного фіброзу. Мутація в RPS9 призводить до передчасного старіння у мишей [67]. Інший механізм, що призводить до колапсу мережі протеостазу, пов'язаний з уповільненою, тривалою трансляцією та кумулятивним окисним пошкодженням білків, що «відволікає» шаперонів від згортання здорових білків, необхідних для клітинного гомеостазу [68]. Крім того, багато вікових нейродегенеративних захворювань, включаючи бічний аміотрофічний склероз і хворобу Альцгеймера, спричинені мутаціями в білках, що роблять їх внутрішньо схильними до неправильного згортання та агрегації, тим самим переважуючи механізми відновлення, елімінації та обміну білків, необхідних для підтримки здорового стану клітини [2].

Мережа протеостазу також руйнується, коли механізми контролю якості виходять з ладу. Наприклад, через порушення функції реакції розгорнутого білка в ендоплазматичному ретикулумі стабілізація належним чином згорнутих білків порушується, а механізми деградації білка в протеосомі або лізосомі є недостатніми. Зниження активності протеосом спостерігали в старих органах, включаючи мозок риби *Nothobranchius furzeri*. Крім того, деякі моноубіквітинильовані білки накопичуються в старіючих тканинах дрозофіл, мишей, мавп і людини на гістоні 2A.

Впровадження високопродуктивних технологій omics у цій галузі разом із вивченням структурної та крос-зв'язкової біохімії може забезпечити новий підхід до розуміння механізмів диференціального протеостазу у здорових і хворих тілах. Ці дані можуть бути використані для розроблення цільової генної терапії.

І старіння, і рак мають низку подібних ознак. Окремі ознаки старіння (наприклад, геномна нестабільність, епігенетичні зміни, хронічне запалення та дисбактеріоз) дуже схожі на специфічні ознаки раку, і тому є загальними метаознаками. Навпаки, інші характерні ознаки старіння (наприклад, виснаження теломерів і виснаження стовбурових клітин) діють на можливе пригнічення онкогенезу, і тому їх можна вважати антагоністичними ознаками. Неєфективна макроаутофагія та старіння – дві характерні

ознаки, що мають залежні від контексту онкосупресивні або пухлинні ефекти [3].

Однак, на відміну від раку, старіння не є молекулярною хворобою. На найнижчому рівні – нормальні внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, як-от mTOR, що керують розвитком і ростом клітин, стають гіперфункціональними пізніше в житті, викликаючи вікові захворювання, що підсумовують старіння. Головною ознакою старіння в усього живого є вікові захворювання. Крім того, ознаки старіння можна представити як часову шкалу, де початкова гіперфункція супроводжується дисфункцією, пошкодженням органів і функціональним зниженням [69].

Висновки

1. Тривалість життя людини тісно пов'язана зі зниженням можливостей до репарації та регенерації тканин і органів. У відповідь на стрес на молекулярному, клітинному та системному рівнях генетичні, епігенетичні та регуляторні чинники довкілля зумовлюють зниження фізіологічних можливостей організму. Вони використовують складні молекулярні механізми (вкорочення теломерів, накопичення пошкоджень ДНК, метаболічні зміни та надмірне утворення вільних радикалів), які в сукупності впливають на швидкість старіння.

2. У сукупності ці механізми пригнічують проліферацію клітин, змінюють метаболізм і експресію генів, а також індуюють високі рівні вільних радикалів, підтримуючи фенотип клітини, що старіє. Хоча кількість ранніх клітин, що старіють, невисока, вони можуть обмежувати регенераційну здатність стовбурових клітин тканин і призводити до накопичення клітинних пошкоджень, спричиняючи вікові захворювання. Сучасні досягнення у високопродуктивній геноміці, транскриптоміці, протеоміці та метаболоміці дають змогу охарактеризувати і кількісно визначити тисячі епігенетичних маркерів, транскриптів (транскриптом – мРНК), білків (протеом) і метаболітів (метаболом) та можуть виявити загальні зміни, що відбуваються з віком у складних організмах на молекулярному рівні.

3. Інтеграція цих молекулярних маркерів і пов'язаних молекулярних механізмів у комплексне оцінювання біологічного віку для запобігання асоційованому з віком функціональному зниженню та захворюваності стає надзвичайно актуальною в медичній науці, тому має бути реалізована на практиці якомога швидше.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні та вдосконаленні фармакотерапевтичних засобів, що сприяють біовітальізації організму та підвищують якість життя людини.

Фінансування

Дослідження здійснили в рамках ініціативної науково-дослідної роботи без залучення спеціального фінансування.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Uģis Kleitnieks, доктор MBA, член правління Центру компетентних технологій та розумних матеріалів, Латвійська асоціація довголіття, м. Юрмала.

ORCID ID: 0000-0002-5300-0974

Audrius Butkevichius, д-р медицини, модератор проєктів з військової медицини, ГО «Міжнародний інформаційний Нобелівський центр. Офіційне представництво в Україні», м. Дніпро.

ORCID ID: 0009-0007-3243-7951

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

ORCID ID: 0000-0001-5935-4856

Соколовський С. С., аспірант каф. державного управління і місцевого самоврядування, Національний технічний університет «Дніпровська політехніка», Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6559-9777

Information about authors:

Uģis Kleitnieks, Doctor of MBA, Member of the Board of the Smart Materials and Technologies Competence Center, Latvian Longevity Association, Jurmala.

Audrius Butkevichius, MD, Moderator of Projects on Military Medicine, International Nobel Information Centre, Official Representation in Ukraine, Dnipro.

Hladyshch V. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Medicines Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Sokolovskiy S. S., graduate student of the Department of State Administration and Local Self-Government, National Technical University "Dnipro Polytechnic", Ukraine.

References

- Bonkowski MS, Sinclair DA. Slowing ageing by design: the rise of NAD⁺ and sirtuin-activating compounds. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17(11):679-90. doi: [10.1038/nrm.2016.93](https://doi.org/10.1038/nrm.2016.93)
- López-Otín C, Kroemer G. Hallmarks of Health. *Cell.* 2021 Jan 7;184(1):33-63. doi: [10.1016/j.cell.2020.11.034](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.034). Epub 2020 Dec 18. Erratum in: *Cell.* 2021;184(7):1929-39.
- López-Otín C, Pietrocola F, Roiz-Valle D, Galluzzi L, Kroemer G. Meta-hallmarks of aging and cancer. *Cell Metab.* 2023;35(1):12-35. doi: [10.1016/j.cmet.2022.11.001](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.11.001)
- López V, Fernández AF, Fraga MF. The role of 5-hydroxymethylcytosine in development, aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev.* 2017;37:28-38. doi: [10.1016/j.arr.2017.05.002](https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.05.002)
- Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, et al. Geroscience: linking aging to chronic disease. *Cell.* 2014;159(4):709-13. doi: [10.1016/j.cell.2014.10.039](https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.039)
- Schumacher B, Pothof J, Vijg J, Hoeijmakers JHJ. The central role of DNA damage in the ageing process. *Nature.* 2021;592(7856):695-703. doi: [10.1038/s41586-021-03307-7](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03307-7)
- Simon M, Yang J, Gigas J, Earley EJ, Hillpot E, Zhang L, et al. A rare human centenarian variant of SIRT6 enhances genome stability and interaction with Lamin A. *EMBO J.* 2022;41(21):e110393. doi: [10.15252/embj.2021110393](https://doi.org/10.15252/embj.2021110393)
- Vijg J, Dong X. Pathogenic Mechanisms of Somatic Mutation and Genome Mosaicism in Aging. *Cell.* 2020;182(1):12-23. doi: [10.1016/j.cell.2020.06.024](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.024)
- Williams AB, Schumacher B. p53 in the DNA-Damage-Repair Process. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(5):a026070. doi: [10.1101/cshperspect.a026070](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026070)
- Regulski MJ. Cellular Senescence: What, Why, and How. *Wounds.* 2017;29(6):168-74.
- Martincorena I, Fowler JC, Wabik A, Lawson AR, Abascal F, Hall MW, et al. Somatic mutant clones colonize the human esophagus with age. *Science.* 2018;362(6417):911-7. doi: [10.1126/science.aau3879](https://doi.org/10.1126/science.aau3879)
- Cagan A, Baez-Ortega A, Brzozowska N, Abascal F, Coorens TH, Sanders MA, et al. Somatic mutation rates scale with lifespan across mammals. *Nature.* 2022;604(7906):517-24. doi: [10.1038/s41586-022-04618-z](https://doi.org/10.1038/s41586-022-04618-z)
- Hennekam RCM. Pathophysiology of premature aging characteristics in Mendelian progeroid disorders. *Eur J Med Genet.* 2020;63(11):104028. doi: [10.1016/j.ejmg.2020.104028](https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2020.104028)
- Son JM, Lee C. Mitochondria: multifaceted regulators of aging. *BMB Rep.* 2019;52(1):13-23. doi: [10.5483/BMBRep.2019.52.1.300](https://doi.org/10.5483/BMBRep.2019.52.1.300)
- Chiang JL, Shukla P, Pagidas K, Ahmed NS, Karri S, Gunn DD, et al. Mitochondria in Ovarian Aging and Reproductive Longevity. *Ageing Res Rev.* 2020;63:101168. doi: [10.1016/j.arr.2020.101168](https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101168)
- Quan Y, Xin Y, Tian G, Zhou J, Liu X. Mitochondrial ROS-Modulated mtDNA: A Potential Target for Cardiac Aging. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:9423593. doi: [10.1155/2020/9423593](https://doi.org/10.1155/2020/9423593)
- Guo J, Huang X, Dou L, Yan M, Shen T, Tang W, Li J. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):391. doi: [10.1038/s41392-022-01251-0](https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0)
- Fagundes N, Bisso-Machado R, Figueiredo P, Varal M, Zani A. What We Talk About When We Talk About "Junk DNA". *Genome Biol Evol.* 2022;14(5):evac055. doi: [10.1093/gbe/evac055](https://doi.org/10.1093/gbe/evac055)
- Xu T, Cheng D, Zhao Y, Zhang J, Zhu X, Zhang F, et al. Polymorphic tandem DNA repeats activate the human telomerase reverse transcriptase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(26):e2019043118. doi: [10.1073/pnas.2019043118](https://doi.org/10.1073/pnas.2019043118)
- DeBoy EA, Tassia MG, Schratz KE, Yan SM, Cosner ZL, McNally EJ, et al. Familial Clonal Hematopoiesis in a Long Telomere Syndrome. *N Engl J Med.* 2023;388(26):2422-33. doi: [10.1056/NEJMoa2300503](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2300503)
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1961;25:585-621. doi: [10.1016/0014-4827\(61\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0014-4827(61)90192-6)
- Shay JW. Role of Telomeres and Telomerase in Aging and Cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(6):584-93. doi: [10.1158/2159-8290.CD-16-0062](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0062)
- Robinson NJ, Schieman WP. Telomerase in Cancer: Function, Regulation, and Clinical Translation. *Cancers (Basel).* 2022;14(3):808. doi: [10.3390/cancers14030808](https://doi.org/10.3390/cancers14030808)
- Solyom S, Kazazian HH Jr. Mobile elements in the human genome: implications for disease. *Genome Med.* 2012;4(2):12. doi: [10.1186/gm311](https://doi.org/10.1186/gm311)
- Macciardi F, Giulia Bacalini M, Miramontes R, Boattini A, Taccioli C, Modenini G, et al. A retrotransposon storm marks clinical phenocopy to late-onset Alzheimer's disease. *Geroscience.* 2022;44(3):1525-50. doi: [10.1007/s11357-022-00580-w](https://doi.org/10.1007/s11357-022-00580-w)
- Gorbunova V, Seluanov A, Mita P, McKerron W, Fenyö D, Boeke JD, et al. The role of retrotransposable elements in ageing and age-associated diseases. *Nature.* 2021;596(7870):43-53. doi: [10.1038/s41586-021-03542-y](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03542-y)
- Tian X, Firsanov D, Zhang Z, Cheng Y, Luo L, Tomblin G, et al. SIRT6 Is Responsible for More Efficient DNA Double-Strand Break Repair in Long-Lived Species. *Cell.* 2019;177(3):622-638.e22. doi: [10.1016/j.cell.2019.03.043](https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.043)
- Della Valle F, Reddy P, Yamamoto M, Liu P, Saera-Vila A, Bensaddek D, et al. *LINE-1* RNA causes heterochromatin erosion and is a target for amelioration of senescent phenotypes in progeroid syndromes. *Sci Transl Med.* 2022;14(657):eabl6057. doi: [10.1126/scitranslmed.abl6057](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abl6057)
- Roichman A, Elhanati S, Aon MA, Abramovich I, Di Francesco A, Shahar Y, et al. Restoration of energy homeostasis by SIRT6 extends healthy lifespan. *Nat Commun.* 2021;12(1):3208. doi: [10.1038/s41467-021-23545-7](https://doi.org/10.1038/s41467-021-23545-7)
- Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol.* 2013;14(10):R115. doi: [10.1186/gb-2013-14-10-r115](https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115)
- Sen P, Shah PP, Natívio R, Berger SL. Epigenetic Mechanisms of Longevity and Aging. *Cell.* 2016;166(4):822-39. doi: [10.1016/j.cell.2016.07.050](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.050)
- Levine ME, Lu AT, Quach A, Chen BH, Assimes TL, Bandinelli S, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Ageing (Albany NY).* 2018;10(4):573-91. doi: [10.18632/aging.101414](https://doi.org/10.18632/aging.101414)
- Loomba R, Gindin Y, Jiang Z, Lawitz E, Caldwell S, Djedjos CS, et al. DNA methylation signatures reflect aging in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *JCI Insight.* 2018;3(2):e96685. doi: [10.1172/jci.insight.96685](https://doi.org/10.1172/jci.insight.96685)
- Belsky DW, Caspi A, Arseneault L, Baccarelli A, Corcoran DL, Gao X, et al. Quantification of the pace of biological aging in humans through a blood test, the DunedinPoAm DNA methylation algorithm. *Elife.* 2020;9:e54870. doi: [10.7554/eLife.54870](https://doi.org/10.7554/eLife.54870)
- Cutter AR, Hayes JJ. A brief review of nucleosome structure. *FEBS Lett.* 2015;589(20 Pt A):2914-22. doi: [10.1016/j.febslet.2015.05.016](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.016)
- Burd CJ, Archer TK. Chromatin architecture defines the glucocorticoid response. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;380(1-2):25-31. doi: [10.1016/j.mce.2013.03.020](https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.03.020)
- Gokey NG, Ward JM, Milliman EJ, Deterding LJ, Trotter KW, Archer TK. The loss of the H1.4 linker histone impacts nascent transcription

- and chromatin accessibility [Internet]. Biorxiv. 2023. Available from: <http://dx.doi.org/10.1101/2023.05.14.540702>
38. Blasco MA. The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nat Rev Genet.* 2007;8(4):299-309. doi: [10.1038/nrg2047](https://doi.org/10.1038/nrg2047)
 39. Swer PB, Sharma R. ATP-dependent chromatin remodelers in ageing and age-related disorders. *Biogerontology.* 2021;22(1):1-17. doi: [10.1007/s10522-020-09899-3](https://doi.org/10.1007/s10522-020-09899-3)
 40. Larson K, Yan SJ, Tsurumi A, Liu J, Zhou J, Gaur K, et al. Heterochromatin formation promotes longevity and represses ribosomal RNA synthesis. *PLoS Genet.* 2012;8(1):e1002473. doi: [10.1371/journal.pgen.1002473](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002473)
 41. Wu Q, Li B, Liu L, Sun S, Sun S. Centrosome dysfunction: a link between senescence and tumor immunity. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):107. doi: [10.1038/s41392-020-00214-7](https://doi.org/10.1038/s41392-020-00214-7)
 42. Jackson-Cook C. Constitutional and acquired autosomal aneuploidy. *Clin Lab Med.* 2011;31(4):481-511, vii. doi: [10.1016/j.cll.2011.08.002](https://doi.org/10.1016/j.cll.2011.08.002)
 43. Martin JM, Kellett JM, Kahn J. Aneuploidy in cultured human lymphocytes: I. Age and sex differences. *Age Ageing.* 1980;9(3):147-53. doi: [10.1093/ageing/9.3.147](https://doi.org/10.1093/ageing/9.3.147)
 44. Cáceres A, Jene A, Esko T, Pérez-Jurado LA, González JR. Extreme Downregulation of Chromosome Y and Cancer Risk in Men. *J Natl Cancer Inst.* 2020;112(9):913-20. doi: [10.1093/jnci/djz232](https://doi.org/10.1093/jnci/djz232)
 45. Abdel-Hafiz HA, Schafer JM, Chen X, Xiao T, Gauntner TD, Li Z, et al. Y chromosome loss in cancer drives growth by evasion of adaptive immunity. *Nature.* 2023 Jul;619(7970):624-31. doi: [10.1038/s41586-023-06234-x](https://doi.org/10.1038/s41586-023-06234-x)
 46. Riaz M, Mattisson J, Polekhina G, Bakshi A, Halvardson J, Danielsson M, et al. A polygenic risk score predicts mosaic loss of chromosome Y in circulating blood cells. *Cell Biosci.* 2021;11(1):205. doi: [10.1186/s13578-021-00716-z](https://doi.org/10.1186/s13578-021-00716-z)
 47. Sano S, Horitani K, Ogawa H, Halvardson J, Chavkin NW, Wang Y, et al. Hematopoietic loss of Y chromosome leads to cardiac fibrosis and heart failure mortality. *Science.* 2022;377(6603):292-7. doi: [10.1126/science.abn3100](https://doi.org/10.1126/science.abn3100)
 48. Hernando-Herraez I, Evano B, Stubbs T, Commere PH, Jan Bonder M, Clark S, et al. Ageing affects DNA methylation drift and transcriptional cell-to-cell variability in mouse muscle stem cells. *Nat Commun.* 2019 Sep 25;10(1):4361. doi: [10.1038/s41467-019-12293-4](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12293-4)
 49. Bhadra M, Howell P, Dutta S, Heintz C, Mair WB. Alternative splicing in aging and longevity. *Hum Genet.* 2020;139(3):357-69. doi: [10.1007/s00439-019-02094-6](https://doi.org/10.1007/s00439-019-02094-6)
 50. Ferioli M, Zauli G, Maiorano P, Milani D, Mirandola P, Neri LM. Role of physical exercise in the regulation of epigenetic mechanisms in inflammation, cancer, neurodegenerative diseases, and aging process. *J Cell Physiol.* 2019;234(9):14852-64. doi: [10.1002/jcp.28304](https://doi.org/10.1002/jcp.28304)
 51. Tabula Muris Consortium. A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature.* 2020;583(7817):590-5. doi: [10.1038/s41586-020-2496-1](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2496-1)
 52. Liu X, Huang J, Chen T, Wang Y, Xin S, Li J, et al. Yamanaka factors critically regulate the developmental signaling network in mouse embryonic stem cells. *Cell Res.* 2008;18(12):1177-89. doi: [10.1038/cr.2008.309](https://doi.org/10.1038/cr.2008.309)
 53. Lu Y, Brommer B, Tian X, Krishnan A, Meer M, Wang C, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature.* 2020;588(7836):124-9. doi: [10.1038/s41586-020-2975-4](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2975-4)
 54. Kulak NA, Geyer PE, Mann M. Loss-less Nano-fractionator for High Sensitivity, High Coverage Proteomics. *Mol Cell Proteomics.* 2017;16(4):694-705. doi: [10.1074/mcp.O116.065136](https://doi.org/10.1074/mcp.O116.065136)
 55. Anfinsen CB. Principles that govern the folding of protein chains. *Science.* 1973;181(4096):223-30. doi: [10.1126/science.181.4096.223](https://doi.org/10.1126/science.181.4096.223)
 56. Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FU. In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science.* 2016;353(6294):aac4354. doi: [10.1126/science.aac4354](https://doi.org/10.1126/science.aac4354)
 57. Chiti F, Dobson CM. Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:27-68. doi: [10.1146/annurev-biochem-061516-045115](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045115)
 58. Sontag EM, Samant RS, Frydman J. Mechanisms and Functions of Spatial Protein Quality Control. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:97-122. doi: [10.1146/annurev-biochem-060815-014616](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014616)
 59. Sabath N, Levy-Adam F, Younis A, Rozales K, Meller A, Hadar S, et al. Cellular proteostasis decline in human senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(50):31902-13. doi: [10.1073/pnas.2018138117](https://doi.org/10.1073/pnas.2018138117)
 60. Li Y, Xue Y, Xu X, Wang G, Liu Y, Wu H, et al. A mitochondrial FUNDC1/HSC70 interaction organizes the proteostatic stress response at the risk of cell morbidity. *EMBO J.* 2019;38(3):e98786. doi: [10.15252/embj.201798786](https://doi.org/10.15252/embj.201798786)
 61. Koyuncu S, Loureiro R, Lee HJ, Wagle P, Krueger M, Vilchez D. Rewiring of the ubiquitinated proteome determines ageing in *C. elegans*. *Nature.* 2021;596(7871):285-90. doi: [10.1038/s41586-021-03781-z](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03781-z)
 62. Ciechanover A, Orian A, Schwartz AL. Ubiquitin-mediated proteolysis: biological regulation via destruction. *Bioessays.* 2000;22(5):442-51. doi: [10.1002/\(SICI\)1521-1878\(200005\)22:5<442::AID-BIES6>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<442::AID-BIES6>3.0.CO;2-Q)
 63. Dikic I, Wakatsuki S, Walters KJ. Ubiquitin-binding domains – from structures to functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(10):659-71. doi: [10.1038/nrm2767](https://doi.org/10.1038/nrm2767)
 64. Klaips CL, Jayaraj GG, Hartl FU. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J Cell Biol.* 2018;217(1):51-63. doi: [10.1083/jcb.201709072](https://doi.org/10.1083/jcb.201709072)
 65. Labbadia J, Morimoto RI. The biology of proteostasis in aging and disease. *Annu Rev Biochem.* 2015;84:435-64. doi: [10.1146/annurev-biochem-060614-033955](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033955)
 66. Montibeller L, de Belleruche J. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and Alzheimer's disease (AD) are characterised by differential activation of ER stress pathways: focus on UPR target genes. *Cell Stress Chaperones.* 2018;23(5):897-912. doi: [10.1007/s12192-018-0897-y](https://doi.org/10.1007/s12192-018-0897-y)
 67. Shcherbakov D, Nigri M, Akbergenov R, Briikova M, Mantovani M, Petit PI, et al. Premature aging in mice with error-prone protein synthesis. *Sci Adv.* 2022;8(9):eab19051. doi: [10.1126/sciadv.abl9051](https://doi.org/10.1126/sciadv.abl9051)
 68. Gerashchenko MV, Peterfi Z, Yim SH, Gladyshev VN. Translation elongation rate varies among organs and decreases with age. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(2):e9. doi: [10.1093/nar/gkaa1103](https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1103)
 69. Blagosklonny MV. Hallmarks of cancer and hallmarks of aging. *Aging (Albany NY).* 2022;14(9):4176-87. doi: [10.18632/aging.204082](https://doi.org/10.18632/aging.204082)