



Some transformations in a series of 4-amino-1,2,4-triazole-3-thion derivatives

O. A. Bihdan¹, V. V. Parchenko¹, B. V. Gutyj²

¹Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine, ²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, 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 continuous improvement of synthesis methods enables the optimization of the process for developing and obtaining target products of chemical transformation. Derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol present a convenient object for chemical transformation, facilitating the creation of promising biologically active compounds. Combining the structure of this heterocyclic system with pharmacophore fragments of different natures allows for more effective work on the development of molecules with high pharmacological potential. To implement this strategy, 2-,3-,4-fluorophenyl-4-amino-1,2,4-triazol-3-thiones were utilized as starting structures. This molecule possesses three reaction centers, facilitating a wide range of chemical transformations involving these substances.

The aim of the work was to create a series of 4-amino-2-((R₁,R₂-amino)methyl)-5-((2-,3-,4)-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones as a promising source for the preparation of biologically active substances.

Materials and methods. The structure of the target compounds has been formed using well-known methods of organic chemistry. The starting materials used were 2-,3-,4-fluorophenyl-4-amino-1,2,4-triazol-3-thiones, which were previously obtained. The first stage of the work involved the temporary protection of the amino group with a *tert*-butoxycarbonyl group. The second stage of the work involved the realization of Mannich reactions involving primary and secondary amines. The reaction has been carried out with formalin in an alcohol-dioxane medium. The products of the chemical transformation have been recrystallized in methanol. The third stage of the work was based on the removal of *Boc*-protection, which was realized using hydrochloric acid in a dioxane medium. The structures of all synthesized substances have been determined by ¹H NMR spectroscopy and elemental analysis. The individuality of the compounds has been confirmed by high-performance liquid chromatography.

Results. The successful study of the mechanisms of Mannich reactions for 4-amino-1,2,4-triazole-3-thione derivatives allowed us to obtain 4-amino-2-((R₁,R₂-amino)methyl)-5-((2-,3-,4)-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones in quantitative yields. The studies made it possible to establish the favorable effect of protecting the amino group of the 2-,3-,4-fluorophenyl-4-amino-1,2,4-triazole-3-thione of the *tert*-butoxycarbonyl group on the course and direction of the reaction.

Conclusions. The optimal conditions for the Mannich reactions involving 2-,3-,4-fluorophenyl-4-amino-1,2,4-triazole-3-thione with intermediate *Boc*-protection of the amino group have been determined, which allowed us to create the theoretical basis for the successful use of Mannich reactions to expand the range of promising 4-amino-1,2,4-triazole-3-thione derivatives.

Keywords: Mannich bases, physicochemical properties, spectral characteristics.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):103-107

Деякі перетворення в ряду похідних 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону

О. А. Бігдан, В. В. Парченко, Б. В. Гутій

Постійне вдосконалення методів синтезу дає змогу оптимізувати процес розробки й одержання цільових продуктів хімічного перетворення. Похідні 1,2,4-тріазол-3-тіолу є зручним об'єктом для хімічної трансформації, і тому за їх участю можна створювати перспективні біологічно активні сполуки. Поєднання структури зазначеної гетероциклічної системи з фармакофорними фрагментами іншої природи забезпечує ефективнішу роботу в напрямі розроблення молекул із високим фармакологічним потенціалом. Для реалізації цієї стратегії як вихідні структури використали 2-,3-,4-фторофеніл-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіони. Ця молекула характеризується наявністю трьох реакційних центрів, що сприяє реалізації широкого спектра хімічних перетворень за участю зазначених речовин.

Мета роботи – створення ряду 4-аміно-2-((R₁,R₂-аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-фторофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіонів як перспективного джерела для одержання біологічно активних речовин.

Матеріали і методи. Структуру цільових сполук сформували, застосувавши відомі методи органічної хімії. Як вихідні речовини використали попередньо одержані 2-,3-,4-фторофеніл-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіони. Перший етап роботи передбачав тимчасовий

ARTICLE INFO



UDC 547.792'599.3'286.2-044.922
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.298780

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):103-107

Keywords: Mannich bases, physicochemical properties, spectral characteristics

*E-mail: abigdana@gmail.com

Received: 22.02.2024 // Revised: 29.03.2024 // Accepted: 03.04.2024

захист аміногрупи *трет*-бутоксикарбонільною групою. Другий етап роботи – реалізація реакцій Манніха за участю первинних і вторинних амінів. Реакцію проводили із залученням формаліну у спиртово-діоксановому середовищі. Продукти хімічного перетворення перекристалізовано в середовищі метанолу. На третьому етапі роботи знято *Вос*-захист; це реалізовано з застосуванням кислоти хлоридної в середовищі діоксану. Структуру всіх синтезованих речовин визначено за допомогою ^1H ЯМР-спектроскопії та елементного аналізу. Індивідуальність сполук підтверджена методом вискоєфективної рідинної хроматографії.

Результати. Успішне дослідження механізмів перебігу реакцій Манніха для похідних 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону дало змогу з кількісними виходами одержати 4-аміно-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-фторофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони. У результаті дослідження встановили сприятливий вплив захисту аміно-групи 2-,3-,4-фторофеніл-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону *трет*-бутилоксикарбонільної групи на перебіг і напрям реакції.

Висновки. Визначили оптимальні умови проведення реакцій Манніха за участю 2-,3-,4-фторофеніл-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону з проміжним *Вос*-захистом аміногрупи. Це дало змогу створити теоретичні засади успішного використання реакцій Манніха для розширення спектра перспективних похідних 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону. Щодо синтезованих сполук надалі заплановано вивчення біологічної активності методами комп'ютерного прогнозування та *in vivo* дослідження анальгетичної, нейропротективної активності, противірусної та антимікробної дії.

Ключові слова: основи Манніха, фізико-хімічні властивості, спектральні характеристики.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 103-107

To expand the arsenal of new biologically active molecules, there is a constant need for targeted research in several synthetic compounds. This, in turn, contributes to solving the urgent problem of creating new highly effective and low-toxic drugs, the demand for which is growing dynamically in the modern world. The creation of new, original molecules of synthetic origin, which in a short time can turn into effective biologically active compounds, and later into modern effective drugs, is, in our opinion, an urgent task [1,2].

Analyzing scientific achievements, our attention was drawn to nitrogen-containing heterocyclic systems [3,4,5]. Separate attention should be paid to 1,2,4-triazole derivatives, which will attract scientists of various scientific fields for a long time [6,7,8,9]. Today, it can be confidently stated that the modern trend is the possibility of combining 1,2,4-triazole with various pharmacophoric substituents, which are oriented according to different positions. Amines are very important representatives of organic compounds, as well as functional groups of various substances. They actively participate in the formation of hydrogen bonds, can be both acceptors and donors of hydrogen bonds. In many cases, amines exhibit a strong ionic interaction with the electron-negative part in the binding site, so, for example, tertiary aliphatic amine is one of the most popular functional groups in pharmaceuticals.

Thus, despite the importance of amines, current methods for their synthesis are still limited. The development of a mild, modular and efficient synthesis of amine derivatives is still a need in medicinal chemistry towards the creation of promising molecules with unique properties.

In the future, the synthesized compounds will be studied for their biological activity by computer prediction and *in vivo*: analgesic action, neuroprotective activity, antiviral and antimicrobial action.

Aim

The aim of the work was to create a series of 4-amino-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-фторофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони as a promising source for the preparation of biologically active substances.

Materials and methods

The structure of the target compounds has been formed using well-known methods of organic chemistry. The starting materials used were 2-,3-,4-fluorophenyl-4-amino-1,2,4-triazol-3-thiones, which had been previously obtained. The first stage of the work involved the temporary protection of the amino group with a *tert*-butoxycarbonyl group. The second stage of the work involved the realization of Mannich reactions involving primary and secondary amines. The reaction was carried out with formalin in an alcohol-dioxane medium. The products of the chemical transformation have been recrystallized in methanol. The third stage of the work was based on the removal of *Boc* protection, which was realized using hydrochloric acid in a dioxane medium.

The structures of all synthesized substances have been determined by ^1H NMR spectroscopy and elemental analysis. The individuality of the compounds has been confirmed by high-performance liquid chromatography.

Taking into account the above fact, we developed a new strategy for the synthesis of Mannich bases based on new 4-amino-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-фторофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони (1–3, Fig. 1) and confirmed their structure. We used previously synthesized compounds 1, 2, 3 (Fig. 1) [10] as starting compounds.

4-Amino-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-фторофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони (4–21). 10 mmol of protected *tert*-butyl(1-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-3-((2-,3-,4)-фторофеніл)-5-тіо-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)карбамат was dissolved in a solution of dioxane with 4 M hydrochloric acid (1.25 equiv.) and stirred at room temperature for 2 h. The solvent was distilled off in a rotary evaporator, washed with water and recrystallized from methanol.

Results

The success of the reaction and formation of Mannich bases is evidenced by the results of ^1H NMR spectroscopy (Fig. 2). In the spectrum, the characteristic signals of the methyl residue of the aliphatic amine are observed in a strong field at

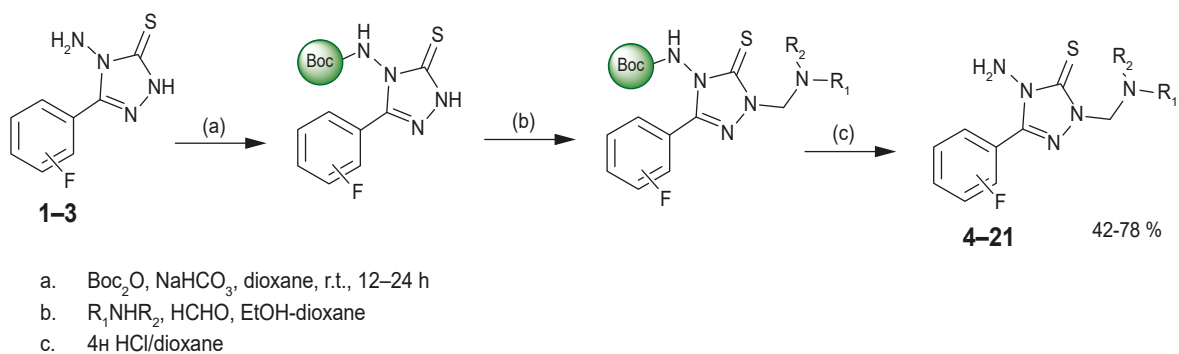
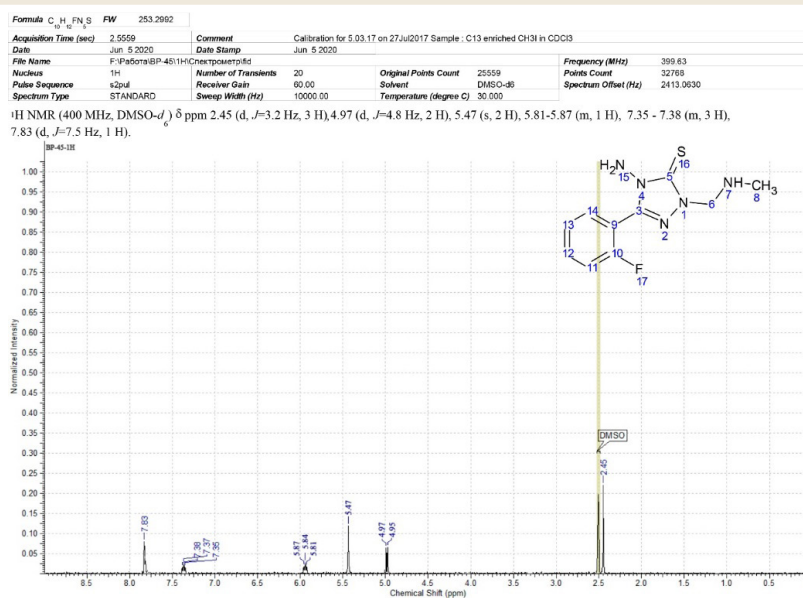


Fig. 1. Synthesis of Mannich bases using protection of the amino group.

Fig. 2. ^1H NMR spectrum of 4-amino-5-(2-fluorophenyl)-2-((methylamino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (4).

2.49 ppm. The signal of the protons of the secondary amino group is recorded as a complex multiplet at 5.87–5.81 ppm. The signal of the methylene group from formaldehyde in the Mannich base resonates at 4.97 ppm. in the form of a doublet.

Studying the values of the chemical shift signals for the phenyl ring indicates that the fluorine atom exerts an acceptor effect and shifts the aromatic range of signals slightly into the weak field in the form of doublets and multiplets. Substances are individual crystalline compounds of white or yellow color, insoluble in water, soluble in organic solvents. The structure of the compounds was proven using spectral methods of analysis, and their individuality – chromatographically.

4-Amino-5-(2-fluorophenyl)-2-((methylamino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (4). Yield 63 %, yellow cryst. connection, T. pl. 143–145 °C. ^1H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.83 (d, $J = 7.5$, 1H), 7.38–7.35 (m, 3H), 5.87–5.81 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.97 (d, $J = 4.8$, 2H), 2.45 (d, $J = 3.2$, 3H). Found, %: C 47.46; H 4.72; N 27.63; S 12.64. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FN}_5\text{S}$. Calculated, %: C 47.42; H 4.78; N 27.65; S 12.66.

4-Amino-2-((ethylamino)methyl)-5-(2-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (5). Yield 52 %, yellow cryst. connection, T. pl. 144–146 °C. ^1H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.89 (dd, $J = 7.5$, 1.6, 1H), 7.35–7.20 (m, 3H), 5.84–5.73 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 5.23 (d, $J = 6.7$, 2H), 2.92–2.84 (m, 2H), 1.15 (t, $J = 5.4$, 3H). Found, %: C 49.40; H 5.25; N 26.24; S 11.97. $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{FN}_5\text{S}$. Calculated, %: C 49.42; H 5.28; N 26.20; S 11.99.

4-Amino-2-((diethylamino)methyl)-5-(2-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (6). Yield 59 %, yellow cryst. connection, T. pl. 138–140 °C. ^1H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.90 (dd, $J = 7.6$, 1.5, 1H), 7.54–7.35 (m, 3H), 5.50 (s, 2H), 4.98 (s, 2H), 2.80–2.74 (m, 4H), 1.14 (t, $J = 4.1$, 6H). Found, %: C 52.83; H 6.11; N 23.76; S 10.87. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{S}$. Calculated, %: C 52.86; H 6.14; N 23.71; S 10.85.

4-Amino-5-(2-fluorophenyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (7). Yield 57 %, yellow cryst. connection, T. pl. 125–127 °C. ^1H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.90 (dd, $J = 7.5$, 1.6, 1H), 7.48–7.21

(m, 3H), 5.84–5.76 (m, 1H), 5.50 (s, 2H), 5.28 (d, J = 6.2, 2H), 4.67 (t, J = 6.3, 1H), 3.72–3.64 (m, 2H), 3.01 (q, J = 7.2, 2H). Found, %: C 46.66; H 4.91; N 24.77; S 11.30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Calculated, %: C 46.63; H 4.98; N 24.72; S 11.32.

4-Amino-2-((bis(2-hydroxyethyl)amino)methyl)-5-(2-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (8). Yield 51 %, yellow cryst. connection, T.pl. 145–147 °C. ¹H NMR spectrum, δ , m.h. (J, Hz): 7.82–7.57 (m, 4H), 5.48 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.49 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 3.74–3.66 (m, 4H), 2.78 (t, J = 6.6, 4H). Found, %: C 47.64; H 5.51; N 21.41; S 9.74. $C_{13}H_{18}FN_5O_2S$. Calculated, %: C 47.69; H 5.54; N 21.39; S 9.79.

4-Amino-5-(2-fluorophenyl)-2-(morpholinomethyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (9). Yield 42 %, white cryst. connection, T. pl. 126–128 °C. ¹H NMR spectrum, δ , m.h. (J, Hz): 7.54–7.24 (m, 4H), 5.49 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 3.59 (dd, J = 7.4, 4.7, 4H), 2.76 (dd, J = 7.5, 4.8, 4H). Found, %: C 50.41; H 5.24; N 22.68; S 10.32. $C_{13}H_{16}FN_5OS$. Calculated, %: C 50.47; H 5.21; N 22.64; S 10.36.

4-Amino-5-(3-fluorophenyl)-2-(methylamino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (10). Yield 59 %, yellow cryst. connection, T.pl. 150–152 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.72–7.65 (m, 2H), 7.50–7.42 (m, 1H), 7.34–7.25 (m, 1H), 6.02–5.95 (m, 1H), 5.46 (s, 2H), 4.97 (d, J = 4.9, 2H), 2.49 (d, J = 3.2, 3H). Found, %: C 47.48; H 4.72; N 27.61; S 12.63. $C_{10}H_{12}FN_5S$. Calculated, %: C 47.42; H 4.78; N 27.65; S 12.66.

4-Amino-2-((ethylamino)methyl)-5-(3-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (11). Yield 63 %, yellow cryst. connection, T. pl. 154–156 °C. ¹H NMR spectrum, δ , m.h. (J, Hz): 7.78–7.70 (m, 2H), 7.65 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 7.46–7.36 (m, 1H), 6.20–6.09 (m, 2H), 5.46 (s, 2H), 5.23 (d, J = 6.8, 2H), 2.99–2.91 (m, 2H), 1.15 (t, J = 5.4, 3H). Found, %: C 49.40; H 5.33; N 26.21; S 11.92. $C_{11}H_{14}FN_5S$. Calculated, %: C 49.42; H 5.28; N 26.20; S 11.99.

4-Amino-2-((diethylamino)methyl)-5-(3-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (12). Yield 68 %, yellow cryst. connection, T. pl. 158–160 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.72–7.64 (m, 2H), 7.51–7.47 (m, 1H), 7.34–7.27 (m, 1H), 5.49 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 2.74 (q, J = 4.2, 4H), 1.14 (t, J = 4.1, 6H). Found, %: C 52.89; H 6.11; N 23.73; S 10.81. $C_{13}H_{18}FN_5S$. Calculated, %: C 52.86; H 6.14; N 23.71; S 10.85.

4-Amino-5-(3-fluorophenyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (13). Yield 58 %, yellow cryst. connection, T. pl. 188–190 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.72–7.64 (m, 2H), 7.52–7.46 (m, 1H), 7.34–7.26 (m, 1H), 6.33–6.29 (m, 1H), 5.50 (s, 2H), 5.28 (d, J = 6.2, 2H), 4.67 (t, J = 6.3, 1H), 3.64 (t, J = 7.3, 2H), 3.09–3.01 (m, 2H). Found, %: C 46.67; H 4.93; N 24.77; S 11.30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Calculated, %: C 46.63; H 4.98; N 24.72; S 11.32.

4-Amino-2-((bis(2-hydroxyethyl)amino)methyl)-5-(3-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (14). Yield 55 %, yellow cryst. connection, T. pl. 186–188 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.73–7.64 (m, 2H), 7.48–7.41 (m, 1H), 7.33–7.26 (m, 1H), 5.46 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 4.49

(t, J = 7.5, 2H), 3.66 (t, J = 7.7, 4H), 2.78 (t, J = 6.6 Hz, 4H). Found, %: C 47.75; H 5.61; N 15.42; S 9.72. $C_{13}H_{18}FN_5O_2S$. Calculated, %: C 47.69; H 5.54; N 15.48; S 9.79.

4-Amino-5-(3-fluorophenyl)-2-(morpholinomethyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (15). Yield 46 %, white cryst. connection, T. pl. 168–170 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.73–7.65 (m, 2H), 7.52–7.44 (m, 1H), 7.27–7.30 (m, 1H), 5.46 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 3.59 (dd, J = 7.4, 4.7, 4H), 2.76 (dd, J = 7.5, 4.8, 4H). Found, %: C 50.43; H 5.26; N 22.61; S 10.32. $C_{13}H_{16}FN_5OS$. Calculated, %: C 50.47; H 5.21; N 22.64; S 10.36.

4-Amino-5-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (16). Yield 67 %, yellow cryst. connection, T. pl. 185–187 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.95–7.87 (m, 2H), 7.27–7.19 (m, 2H), 5.95 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.97 (d, J = 4.9, 2H), 2.49 (t, J = 3.2, 3H). Found, %: C 47.48; H 4.72; N 27.69; S 12.64. $C_{10}H_{12}FN_5S$. Calculated, %: C 47.42; H 4.78; N 27.65; S 12.66.

4-Amino-5-(4-fluorophenyl)-2-(methylamino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (16). Yield 67 %, yellow crystals. connection, T. pl. 185–187 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.95–7.87 (m, 2H), 7.27–7.19 (m, 2H), 5.95 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 4.97 (d, J = 4.9, 2H), 2.49 (t, J = 3.2, 3H). Found, %: C 47.48; H 4.72; N 27.69; S 12.64. $C_{10}H_{12}FN_5S$. Calculated, %: C 47.42; H 4.78; N 27.65; S 12.66.

4-Amino-2-((diethylamino)methyl)-5-(4-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (18). Yield 56 %, yellow cryst. connection, T. pl. 178–180 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 8.00–7.92 (m, 2H), 7.30–7.22 (m, 2H), 5.50 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 2.74 (q, J = 4.2, 4H), 1.14 (t, J = 4.1, 6H). Found, %: C 52.83; H 6.11; N 23.79; S 10.84. $C_{13}H_{18}FN_5S$. Calculated, %: C 52.86; H 6.14; N 23.71; S 10.85.

4-Amino-5-(4-fluorophenyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (19). Yield 66 %, yellow cryst. connection, T. pl. 188–190 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 8.00–7.93 (m, 2H), 7.28–7.20 (m, 2H), 6.29 (m, 1H), 5.50 (s, 2H), 5.28 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 4.67 (t, J = 6.3, 1H), 3.64 (t, J = 7.3, 2H), 3.01 (q, J = 7.2, 2H). Found, %: C 46.61; H 5.02; N 24.76; S 11.30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Calculated, %: C 46.63; H 4.98; N 24.72; S 11.32.

4-Amino-5-(4-fluorophenyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (19). Yield 66 %, yellow crystals. connection, T. pl. 188–190 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 8.00–7.93 (m, 2H), 7.28–7.20 (m, 2H), 6.29 (m, 1H), 5.50 (s, 2H), 5.28 (d, J = 6.2 Hz, 2H), 4.67 (t, J = 6.3, 1H), 3.64 (t, J = 7.3, 2H), 3.01 (sq, J = 7.2, 2H). Found, %: C 46.61; H 5.02; N 24.76; From 11.30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Calculated, %: C 46.63; H 4.98; N 24.72; S 11.32.

4-Amino-5-(4-fluorophenyl)-2-(morpholinomethyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione (21). Yield 76 %, white cryst. connection, T. pl. 178–180 °C. ¹H NMR spectrum, δ , ppm (J, Hz): 7.91–7.83 (m, 2H), 7.29–7.21 (m, 2H), 5.46 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 3.59 (dd, J = 7.4, 4.7, 4H), 2.76 (dd, J = 7.5, 4.8, 4H). Found, %: C 50.43; H 5.29; N 21.98; S 10.22. $C_{13}H_{16}FN_5OS$. Calculated, %: C 50.47; H 5.21; N 22.64; S 10.36.

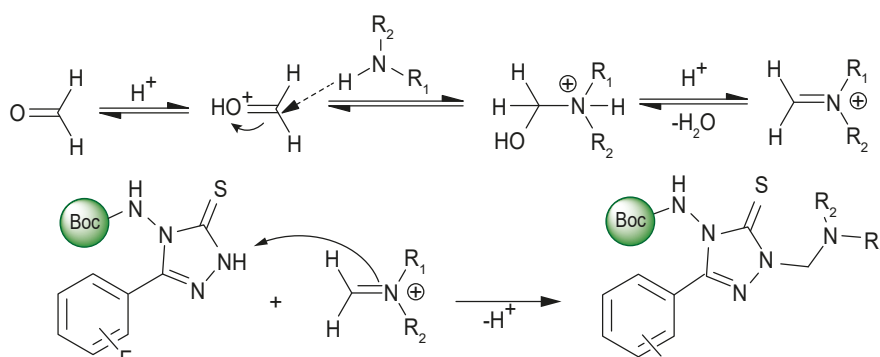


Fig. 3. Potential mechanism of the Mannich reaction in the series 4-amino-2-((R₁,R₂-amino)methyl)-5-((2-, 3-, 4)-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones.

Discussion

The Mannich reaction mechanism begins with the formation of an iminium ion from an amine and formaldehyde. The reaction mechanism begins with the nucleophilic attack of the Nitrogen atom on the carbonyl Carbon with the formation of an intermediate Schiff base, which acts as an electrophile and reacts with the 1,2,4-triazole heterocycle and leads to the Mannich product due to an elegant and powerful transformation (Fig. 3).

Conclusions

1. A new strategy for the synthesis of Mannich bases based on new 4-amino-2-((R₁,R₂-amino)methyl)-5-((2-,3-,4)-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones.
2. The synthesis of new 4-amino-2-((R₁,R₂-amino)methyl)-5-((2-,3-,4)-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones, the structure of the compounds was proven using spectral methods of analysis, and their individuality was confirmed chromatographically.

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

Information about authors:

Bihdan O. A., PhD, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0003-1611-7978

Parchenko V. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-2283-1695

Gutyj B. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacology and Toxicology, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-5971-8776

Відомості про авторів:

Бігдан О. А., канд. фарм. наук, доцент каф. клінічної фармації, фармакоterapiї, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
Парченко В. В., д-р фарм. наук, професор каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Гутий Б. В., д-р вет. наук, професор каф. фармакології та токсикології, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Україна.

References

1. Karpun Y, Polishchuk N. Synthesis and antimicrobial activity of s-substituted derivatives of 1,2,4-triazol-3-thiol. *ScienceRise*. 2021;31(3):64-9. doi: 10.15587/2519-4852.2021.235976
2. Zazharskyi V, Bigdan O, Parchenko V, Parchenko M, Fotina T, Davydenko P, et al. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4-Triazoles. *Arch Pharm Pract*. 2021;12(2):60-5. doi: 10.51847/RbJb3waUBB
3. Kazeminejad Z, Marzi M, Shiroudi A, Kouhpayeh SA, Farjam M, Zarenezhad E. Novel 1, 2, 4-Triazoles as Antifungal Agents. *Biomed Res Int*. 2022;2022:4584846. doi: 10.1155/2022/4584846
4. Gotsulya A, Zazharskyi V, Parchenko V, Davydenko P, Kulishenko O, Brytanova T. N'-(2-(5-((theophylline-7-yl)methyl)-4-ethyl-1,2,4-triazole-3-ylthio)-acetyl)isonicotinohydrazide as antitubercular agents. *Hacetepce University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2022;42(3):149-55. doi: 10.52794/hujpharm.1011368
5. Safonov AA, Panasenko OI. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of 3-(2-bromophenyl)-5-(alkylthio)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazoles. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2022;15(3):35-40. doi: 10.14739/2409-2932.2022.3.264691
6. Guo MB, Yan ZZ, Wang X, Xu H, Guo C, Hou Z, et al. Design, synthesis and antifungal activities of novel triazole derivatives with selenium-containing hydrophobic side chains. *Bioorg Med Chem Lett*. 2022;78:129044. doi: 10.1016/j.bmcl.2022.129044
7. Fedotov SO, Hotsulia AS. Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023;16(2):121-9. doi: 10.14739/2409-2932.2023.2.279460
8. Abdellatif KR, Abdellal EK, Elshemy HA, Philoppes JN, Hassanein EH, Kahk NM. Optimization of pyrazole-based compounds with 1,2,4-triazole-3-thiol moiety as selective COX-2 inhibitors cardioprotective drug candidates: Design, synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory, ulcerogenicity, cardiovascular evaluation, and molecular modeling studies. *Bioorg Chem*. 2021;114:105122. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105122
9. Rushikesh K, Sonawane, Shrinivas K. Mohite. Heterocyclic Bridgehead Nitrogen Atom System: Review on [1,2,4] Triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole and Its Pharmacological Screening. *Asian Journal of Research in Chemistry*. 2021;14(3):217-20. doi: 10.52711/0974-4150.2021.00038
10. Bihdan OA. [Synthesis, chemical modification and biological properties 3-,4-,5- trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thions [dissertation on the Internet]. Zaporizhzhia: Zaporizhzhia State Medical University; 2023 [cited 2024 Apr 1]. Available from: <https://nrat.ukrintel.ua/en/searchdoc/0523U100030/>



Comparison of phytochemical composition, antimicrobial, antifungal, and antioxidant activities of lipophilic and ethanolic green tea leaf extracts

O. Yu. Maslov¹*, M. A. Komisarenko¹, S. V. Ponomarenko², S. V. Kolisnyk¹,
T. P. Osolodchenko², M. Yu. Golik¹

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, ²Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the NAMS of Ukraine, Kharkiv

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

Infection diseases are a worldwide important problem for medicine and pharmacy. Today, there is a high interest in the evolution of new antimicrobial drugs due to the increasing percentage of resistant bacteria and fungi strains. Green tea leaf contains a variety of natural compounds that are possible to apply in the creation of new antimicrobial drugs.

The aim of the work was to compare phytochemical composition, antimicrobial, antifungal activities of lipophilic and ethanolic green tea leaf extracts.

Materials and methods. The object of the research was the lipophilic extract obtained using chloroform, along with two ethanolic extracts of green tea leaves. One of the ethanolic extracts had been previously processed with chloroform, while the other had not. Antioxidant activity was determined by the potentiometric method, while antimicrobial and antifungal activities were assessed by the “wells” method.

Results. The lipophilic extract of green tea leaves contains predominantly caffeine and organic acids, with the lowest amount of phenolic compounds. In contrast, the ethanolic extracts show the opposite pattern, with phenolic compounds predominating and caffeine present in lower quantities. The lipophilic extract exhibits greater inhibition of the growth of *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, and *C. albicans* compared to the 96 % ethanolic extract processed with chloroform, with inhibition rates of 19 %, 18 %, 12 %, 12 %, 16 %, and 20 % respectively. When comparing antimicrobial activity to the 96 % ethanolic extract without chloroform treatment, the results remained consistent. The antioxidant activity of the lipophilic extract was 58.7 and 60.0 times lower than that of the 96 % ethanolic extract processed with chloroform and the 96 % ethanolic extract without treatment, respectively.

Conclusions. The study revealed that the lipophilic extract exhibited greater inhibition of the growth of both Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as fungi compared to the ethanolic extracts. However, it showed a lower level of antioxidant activity. It is hypothesized that caffeine, organic acids, and catechins may interact synergistically to enhance the antimicrobial and antifungal activity of green tea leaf extracts. The lipophilic extract shows promise for further development in the production of antimicrobial and antifungal drugs.

Keywords: green tea, lipophilic extract, caffeine, organic acids, pharmacologic action.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):108-114

Порівняння фітохімічного складу, антимікробної, протигрибкової та антиоксидантної активності ліпофільного й етанольного екстракту листя зеленого чаю

О. Ю. Маслов, М. А. Комісаренко, С. В. Пономаренко, С. В. Колісник, Т. П. Осолодченко, М. Ю. Голік

Інфекційні захворювання є актуальною проблемою медицини та фармації в усьому світі. Значний науковий інтерес викликає розроблення нових протимікробних препаратів, що обґрунтовано збільшенням відсотка резистентності штамів бактерій і грибів. Листя зеленого чаю містить різноманітні природні сполуки, що можна використовувати для створення нових протимікробних препаратів.

Мета роботи – порівняти фітохімічний склад, антимікробну, протигрибкову дію ліпофільного та етанольних екстрактів листя зеленого чаю.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження – ліпофільний екстракт, отриманий хлороформом, та два етанольні екстракти листя зеленого чаю (один із них попередньо екстрагували хлороформом). Антиоксидантну активність визначали потенціометричним методом, антимікробну та протигрибкову – методом «колодязів».

ARTICLE INFO

UDC 615.322:582.687.21-119.2].015.4
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.300967

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):108-114

Keywords: green tea, lipophilic extract, caffeine, organic acids, pharmacologic action.

*E-mail: alexmaslov392@gmail.com

Received: 01.04.2024 // Revised: 29.04.2024 // Accepted: 03.05.2024

Результати. Кількісний вміст кофеїну й органічних кислот переважає у ліпофільному екстракті листя зеленого чаю, а в етанольних екстрактах домінують фенольні сполуки, катехіни та флавоноїди. Ліпофільний екстракт пригнічує ріст *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis* і *C. albicans* на 19 %, 18 %, 12 %, 12 %, 16 % і 20 % краще, ніж 96 % етанольний екстракт після обробки сировини хлороформом. Порівнявши антимікробну активність з 96 % екстрактом без обробки хлороформом, відмінностей результатів не виявили.

Рівень антиоксидантної активності ліпофільного екстракту у 58,7 та 60,0 раза менший, ніж у 96 % екстракту після обробки хлороформом та 96 % екстракту без обробки відповідно.

Висновки. Встановлено, що ліпофільний екстракт активніше пригнічував ріст грампозитивних, грамнегативних бактерій і *C. albicans*, ніж етанольні екстракти, але мав низький рівень антиоксидантної дії. Припустили, що кофеїн, органічні кислоти та катехіни мають пряму синергетичну антимікробну та протигрибкову активність в екстрактах листя зеленого чаю. Ліпофільний екстракт є перспективним для виробництва антимікробних і протигрибкових препаратів.

Ключові слова: листя зеленого чаю, ліпофільний екстракт, кофеїн, органічні кислоти, фармакологічна активність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 108-114

Bacteria and fungi are single-celled organisms and among the earliest forms of life on Earth. While many bacteria and fungi are harmless and even beneficial, aiding in processes such as food digestion in the human body [1]. Approximately 1 % of these microorganisms are opportunistic or pathogenic, capable of causing infectious diseases [2].

According to literature data, every year 7.7 million people die from bacterial infections in the world, which is 13.6 % of all deaths in the world. The main pathogens that cause half of all bacterial deaths are: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* [3]. Meanwhile, nearly a billion people suffer from fungal infections of the skin, nails, and hair, and more than 150 million people suffer from serious fungal diseases that can later be fatal [4]. Consequently, the search for new biologically active substances that will have a high level of antimicrobial and antifungal effects is still relevant today.

In infectious diseases, an excess of free radicals occurs as a result of pathophysiological and biochemical processes caused by the effects of pathogenic bacteria and fungi on human cells [5]. Thus, free radicals play a crucial role in the development of pathogenesis in infectious diseases.

In our opinion, green tea leaf (*Camellia sinensis* L.) are a promising plant that may have antimicrobial, antifungal and antioxidant effects. In our previous research, it was found that the chemical composition of *C. sinensis* leaf is represented by: flavonols (1.38 %), flavonones (0.25 %), phenolcarboxylic acids (1.34 %), flavan-3-ols (20.56 %), as well as organic acids (1.80 %) and caffeine (2.56 %) [6,7]. Due to the presence of flavan-3-ol derivatives, the extracts obtained have powerful antioxidant, anti-inflammatory, antiviral, and antimicrobial effects [8].

Today, scientists pay great attention to the study of the pharmacological activity of extracts obtained with alcohol-water and aqueous-alcohol extractants [9,10,11]. This is of great interest to the scientific community due to the presence of flavan-3-ol derivatives in raw materials, and primarily epigallocatechin-3-O-gallate [12,13,14]. But, at the same time, in the scientometric database Scopus and Web of Science there are no scientific works on the study of the quantitative content of biologically active substances and the pharmacological activity of the lipophilic extract of *C. sinensis* leaf.

Aim

The purpose of our work was to conduct phytochemical researches to study the antimicrobial, antifungal and antioxidant effects of lipophilic and ethanolic *C. sinensis* leaf extracts.

Materials and methods

Plant material. Green tea (*Camellia sinensis* L.) leaf was collected in Anhui province, China (30.634140518993203, 116.33254121482477).

Equipment. The pH meter HANNA 2550 (Germany) with a combined platinum electrode EZDO 50 PO (Taiwan) was applied for potentiometric measurements. Quantitative analysis of biological active compounds was carried out on UV-spectrophotometer UV – 1000 (China) with matched 1 cm quartz cells. Weighing was carried out using digital analytical balance AN100 (AXIS, Poland) with $d = 0.0001$ g.

Extraction procedure. Procedure for obtaining lipophilic extract: 25.0 g of crushed leaves were mixed with 500 mL of chloroform. The extraction was carried out for 1 hour in a water bath with a condenser, then repeated twice with a new portion of the solvent. The obtained extracts were then filtered and concentrated using a rotary evaporator to a volume of 50.0 mL.

Procedure for obtaining 96 % ethanol extract after chloroform. The obtained raw material after extraction of chloroform was dried at room temperature. Then the raw material was extracted twice with 96 % ethanol for 1 hour in a water bath with a condenser, then repeated twice with a new portion of the solvent. The obtained extracts were then filtered and concentrated using a rotary evaporator to a volume of 50.0 mL.

Qualitative analysis. The total content of phenolic compounds was measured by the Folin–Ciocalteu assay, the optical density was measured at 760 nm [15]. The calibration curve was plotted with interval concentrations 1.0–5.0 $\mu\text{g/ml}$, the calibration equation $Y = 0.1055X + 0.1745$ ($R^2 = 0.9951$). Expressed as gallic acid and calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{C_x \times K_{\text{dil}} \times 100}{V}, \quad (\text{Eq. 1})$$

where, C_x is the concentration of gallic acid according to the calibration curve, $C \times 10^{-6}$ g/ml; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution.

The vanillin reagent assay was applied to find out the total catechins [16], the absorbance was measured at 505 nm. The calibration curve was plotted with interval concentrations $100\text{--}400 \times 10^{-6}$ g/ml, the calibration equation $Y = 0.0025X - 0.0851$ ($R^2 = 0.9951$). The total catechins content in the extract, expressed as epigallocatechin-3-O-gallate, was calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{C_x \times K_{dil} \times 100}{V}, \quad (\text{Eq. 2})$$

where, C_x is the concentration of epigallocatechin-3-O-gallate according to calibration curve, $C \times 10^{-6}$ g/ml; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution.

The total flavonoids were determined by assay of complex formation with AlCl_3 , the absorbance was measured at 417 nm [17]. The total flavonoid content in the extract, expressed as rutin was calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{C_x \times K_{dil} \times 100}{A_{st} \times V}, \quad (\text{Eq. 3})$$

where, A is the absorbance of analyzed solution; A_{st} is the absorbance of standard solution of rutin; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution.

The total hydroxycinnamic acids derivatives content was measured by assay of complex formation with $\text{NaNO}_2\text{--Na}_2\text{MoO}_4$, the absorbance was measured at 505 nm [18]. The total content of hydroxycinnamic acids derivatives in extract, expressed as chlorogenic acid was calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{C_x \times K_{dil}}{188 \times V}, \quad (\text{Eq. 4})$$

where, A is the absorbance of analyzed solution; 188 is the specific adsorption coefficient of chlorogenic acid; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution.

The total organic acids content was determined by acid-base titration with the fixation end-point by potentiometric method [19]. The total content of organic acids in the extract, expressed as citric acid was calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{(V_{equiv} - V_x) \times 0.0032 \times K_{dil} \times K \times 100}{V}, \quad (\text{Eq. 5})$$

where, 0.0032 is the amount of citric acid, which is equivalent to 1 ml of sodium hydroxide solution (0.05 mol/l), g; V_{equiv} is the volume of sodium hydroxide solution (0.05 mol/l), which was used for titration, ml; V_x is the volume of sodium hydroxide solution (0.05 mol/L), which was spent for titration in a blank experiment, ml; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution; K is the correction coefficient for 0.05 mol/l sodium hydroxide solution.

The content of caffeine was assessed by molecular adsorption analysis [19]. The total content of caffeine in the extract was calculated according to the following equation:

$$X(\%) = \frac{A \times K_{dil} \times m_{st} \times 100 \times 100}{A_{st} \times V}, \quad (\text{Eq. 6})$$

where, A is the absorbance of analyzed solution; A_{st} is the absorbance of standard solution of caffeine; V is the volume of extract, ml; K_{dil} is the coefficient of dilution.

Antioxidant activity assay. The antioxidant activity of the extract was evaluated by the potentiometric method [20,21]. Antioxidant activity was calculated according to the following equation and expressed as mmol-equiv./m_{dry res.}:

$$\text{AOA} = \frac{C_{ox} - \alpha \times C_{red}}{1 + \alpha} \times K_{dil} \times 103 \times \frac{m_1}{m_2}, \quad (\text{Eq. 6})$$

where, $\alpha = C_{ox} / C_{red} \times 10^{(\Delta E - E_{ethanol})nF/2.3RT}$; C_{ox} is the concentration of $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, mol/l; C_{red} is the concentration of $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, mol/l; $E_{ethanol} = 0.0546 \cdot C_{\%} - 0.0091$; $C_{\%}$ is the concentration of ethanol; ΔE is the change of potential; $F = 96485.33$ C/mol is Faraday constant; $n = 1$ is the number of electrons in electrode reaction; $R = 8.314$ J/molK is universal gas constant; $T = 298$ K; K_{dil} is the coefficient of dilution; m_1 is the mass of dry residue; m_2 is the mass of dry residue in 1.0 ml of extract.

Epigallocatechin-3-O-gallate, 60 % extract of *C. sinensis* leaf was used as the standard.

Test organisms. «Museum strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NTCS 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Candida albicans* ATCC 885/653 were used by the recommendations for the assessment of antimicrobial activity of drugs.

Antimicrobial activity assay. In our study, we used the extract solution, the solvent of which was 60 % ethanol. The method of diffusion of the drug into agar was carried out by the “wells” method [22]. Studies of antibacterial activity were performed by the “wells” method. Preparation of microorganisms suspensions with determined concentrations of microorganisms (optical density) was carried out by the standard of turbidity (0.5 units according to the scale of McFarland) with equipment of Densi-La-Meter (Czech, wavelength 540 nm). Suspensions were prepared according to the equipment and information list. The colony forming unit was 107 microorganisms at 1 ml of growth medium and determined by the standard of McFarland). On solidified agar, by a pipette under sterile conditions in Petri dishes 1 ml of a suspension of microorganisms. After uniform distribution of microorganisms over the entire surface of the agar, the plates were incubated at room temperature for 15–20 minutes. Next, wells with a diameter of 6 mm were made in the cups, into which solutions of the test substances were introduced. The samples were incubated at 37 °C for 16–24 hours. After incubation, the plates were placed upside down on a dark matte surface so that light fell at an angle of 45° (accounting for reflected light). The diameter of the growth retardation zones was measured by the caliper [23].

Gentamicin and fluconazole were used as reference drugs for assessing antimicrobial and anti-fungal activity.

Table 1. Results of determination of total content of phenolic compounds, catechins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, organic acids, and caffeine in *C. sinensis* extracts

Sample	Total phenolic compounds, % ± SD	Total catechins, % ± SD	Total flavonoids, % ± SD	Total hydroxycinnamic acids, % ± SD	Caffeine, % ± SD	Total organic acids, % ± SD
Lipophilic extract	0.43 ± 0.02	–	–	–	1.21 ± 0.01	0.80 ± 0.01
96 % extract after chloroform	8.20 ± 0.20	8.39 ± 0.20	0.51 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.53 ± 0.01
96 % extract	8.67 ± 0.20	8.40 ± 0.20	0.51 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.31 ± 0.01	1.32 ± 0.01

SD: standard deviation, n = 3.

Table 2. Results of antimicrobial and anti-fungi of *C. sinensis* extracts

Sample	Concentration mmol/L, (expressed in total polyphenols as gallic acid)	Diameter of the growth retardation zone, mm ± SD					
		Gramm-positive		Gramm-negative			Fungi
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Lipophilic extract	0.008	32.33 ± 0.33	30.67 ± 0.20	29.00 ± 0.20	24.33 ± 0.33	25.67 ± 0.20	24.00 ± 0.20
96 % extract after chloroform	0.14	26.33 ± 0.33	25.67 ± 0.20	23.67 ± 0.67	21.33 ± 0.33	22.67 ± 0.20	20.00 ± 0.20
96 % extract	0.15	32.00 ± 0.20	31.00 ± 0.20	28.33 ± 0.33	24.33 ± 0.33	25.00 ± 0.20	24.00 ± 0.20
96 % ethanol	–	14.00 ± 0.20	14.00 ± 0.20	13.00 ± 0.20	13.00 ± 0.20	13.00 ± 0.20	13.00 ± 0.20
Gentamycin	0.003 ^a	22.00 ± 0.20	24.00 ± 0.20	25.33 ± 0.33	25.00 ± 0.20	25.67 ± 0.67	12.00 ± 0.20
Fluconazole	0.003 ^b	18.00 ± 0.20	12.00 ± 0.20	14.33 ± 0.33	12.33 ± 0.33	10.00 ± 0.20	20.00 ± 0.50

a: molar concentration of gentamycin; b: molar concentration of fluconazole; SD: standard deviation, n = 3.

Results

The lipophilic extract from *C. sinensis* leaf, as well as two ethanolic extracts, one with pre-treatment of the raw material with chloroform and the other without, were obtained. According to the results shown in *Table 1*, it was found that the content of phenolic compounds was 0.43 ± 0.02 % in the 96 % extract after treatment with chloroform and 8.20 ± 0.02 % in the 96 % extract without chloroform treatment. The difference in the content of phenolic compounds between the two 96 % extracts was 0.47 %, which practically corresponds to the content of phenolic compounds in the lipophilic extract.

The amount of catechins expressed as epigallocatechin-3-O-gallate was 8.40 ± 0.20 % in the 96 % extract, and 8.39 ± 0.02% in the 96 % extract after treatment with chloroform, in turn, in the lipophilic no catechins were detected in the extract. The quantitative content of the sum of flavonoids expressed as rutin in the two ethanolic extracts was 0.51 ± 0.02 and was not found in the lipophilic extract (*Table 1*).

Table 1 shows that the content of the total hydroxycinnamic acids in the 96 % ethanolic extract without treatment with chloroform was 0.78 ± 0.02 %, and in the extract after treatment with chloroform it was 0.77 ± 0.02 %. No hydroxycinnamic acids were found in the lipophilic extract.

The highest caffeine content was determined in the lipophilic extract (1.21 ± 0.02 %), and the lowest in the 96 % extract after treatment with chloroform (0.10 ± 0.01 %). The content of organic acids expressed as citric acid in the

lipophilic extract of *C. sinensis* was 0.80 ± 0.01 %, in the 96 % ethanolic extract it was 1.32 ± 0.01 %, and in the 96 % extract after treatment with chloroform, it was 0.53 ± 0.01 %. The difference between the two ethanolic extracts was 0.79 ± 0.01 %, corresponding to the content of organic acids in the lipophilic extract (*Table 1*).

The lipophilic extract of green tea leaves contains higher levels of caffeine and organic acids, while phenolic compounds are presented in lesser amounts. In contrast, the ethanolic extracts show the opposite trend, with phenolic compounds dominating but lower levels of caffeine.

Table 2 illustrates the significant antimicrobial and antifungal activity exhibited by all the extracts obtained. The lipophilic extract demonstrates superior inhibition of growth compared to the 96 % ethanolic extract treated with chloroform, with respective improvements of 19 %, 18 %, 12 %, 12 %, 16 %, and 20 % against *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, and *C. albicans*. Furthermore, the antimicrobial activity remains unchanged compared to the 96 % extract without chloroform treatment.

Comparing the obtained results with the reference standard gentamicin, it was observed that *S. aureus*, *B. subtilis*, and *E. coli* exhibited less sensitivity to gentamicin compared to the lipophilic extract, the 96 % extract after chloroform treatment, and the 96 % ethanolic extract of *C. sinensis* leaf. Conversely, *P. vulgaris* and *P. aeruginosa* were more sensitive to gentamicin. In terms of antifungal activity against *C. albicans*, it was found that the lipophilic extract, the 96 %

Table 3. Results of antioxidant activity of *C. sinensis* extracts

Samples	Antioxidant activity, mmol-equiv./m _{dry res}	Conditional term of antioxidant activity
Lipophilic extract	10.30 ± 0.10	Lower Medium
96 % extract after chloroform	605.00 ± 6.00	Very high
96 % extract	617.29 ± 6.00	Very high

Table 4. Level of antioxidant activity of *C. sinensis* leaf extracts and standard: epigallocatechin-3-O-gallate at concentration 0.03 mol/L

Sample	Concentration, mol/L	Antioxidant activity, mmol-equiv./m _{dry res.} ± SD
Lipophilic extract	0.03	10.30 ± 0.10
96 % extract after chloroform		37.81 ± 2.00
96 % extract		37.80 ± 2.00
Epigallocatechin-3-O-gallate		30.78 ± 2.00

extract after chloroform treatment, and the 96 % ethanolic extract of *C. sinensis* leaf were more effective at inhibiting fungal growth than fluconazole (Table 2).

The level of antioxidant activity of the obtained extracts was studied by the potentiometric method. According to the research results, it was found that the level of antioxidant activity of the lipophilic extract was 58.7 and 60.0 times less than the 96 % extract after treatment with chloroform and 96 % extract without treatment, respectively. Although, according to the developed classification of the “strength” of antioxidant activity according to Maslov, the lipophilic extract has a level of antioxidant activity that is below average, 96 % extract after treatment with chloroform is very high, and 96 % extract without treatment is very high (Table 3).

Further, it was prepared solutions (in terms of the amount of polyphenols expressed as gallic acid) of extracts with 0.03 M concentration of *C. sinensis* leaf extracts and epigallocatechin-3-O-gallate. As a result of the study, it was found that the level of antioxidant activity of 96 % extract, 96 % extract after chloroform *C. sinensis* leaf were higher of standard epigallocatechin-3-O-gallate, whereas the level of antioxidant activity of lipophilic extract was lower (Table 4).

Discussion

The analyzed extracts from *C. sinensis* leaves exhibited high antimicrobial and antifungal activity against strains of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, and *C. albicans*. While the concentration of polyphenols in the extracts was three times lower than that of gentamicin and fluconazole, it might initially appear that the antimicrobial and antifungal activity of the *C. sinensis* leaf extracts is significantly inferior to that of gentamicin and fluconazole. However, it is important to note that gentamicin carries serious toxicity risks to the auditory nerve, kidneys, and liver, potentially leading to severe complications. In contrast, despite the lower concentration, fluconazole and *C. sinensis* leaf extracts exhibited comparable antifungal effects. Fluconazole is recognized as a leading antifungal agent, albeit with weaker activity against gram-negative and gram-positive bacteria. In contrast, *C. si-*

ensis leaf extracts demonstrated sensitivity against bacterial and fungal strains. Therefore, *C. sinensis* leaf extracts represent a promising pharmaceutical option with a wide spectrum of action against various strains of bacteria and fungi, while also possessing reduced toxicity.

Many studies show that the antimicrobial and antifungal effect is associated with the presence of catechin derivatives. We set out to disprove this by producing three *C. sinensis* leaf extracts: a lipophilic extract, a 96 % extract without chloroform treatment, and a 96 % extract after chloroform treatment. As a result of three different extractions, the biologically active substances of the *C. sinensis* leaf were separated by polarity. Thus, derivatives of organic acids, caffeine, as well as some phenolic compounds were extracted into the lipophilic extract; we assume this may be the presence of gallic acid. At the same time, 96 % of the extract was extracted after treatment with chloroform, phenolic compounds, catechins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, and some parts of organic acids and caffeine. Meanwhile, in the 96 % extract without treatment with chloroform, all the main biologically active substances were extracted from the raw material, phenolic compounds, caffeine, and organic acids.

Based on the above results of the antimicrobial and antifungal activity of the extracts, it was found that the 96 % extract after treatment with chloroform is an order of magnitude inferior to the lipophilic and 96 % extract without treatment with chloroform. Thus, we can say that organic acids and caffeine also have antimicrobial and antifungal effects, thereby potentiating the activity of catechins and other phenolic compounds. At the same time, the level of antioxidant activity of the lipophilic extract is significantly lower than ethanol extracts, which suggests that caffeine and organic acids in no way have an antioxidant effect. Meanwhile, 96 % of the extracts have a high level of antioxidant activity.

Hence, we hypothesize that caffeine, organic acids, and catechins interact synergistically to enhance antimicrobial and antifungal activity, while caffeine and organic acids individually do not exhibit antioxidant effects. As a result, the extract, tincture, and infusion constitute complex preparations wherein biologically active substances interact synergistical-

ly, operating through multiple mechanisms [24]. In our view, it is inaccurate to attribute the pharmacological activity solely to one group of biologically active substances.

Conclusions

1. We conducted a study to quantify the content of phenolic compounds, catechins, flavonoids, hydroxycinnamic and organic acids, and caffeine in lipophilic and two ethanolic extracts of green tea leaves.

2. The lipophilic extract demonstrated potent inhibition of Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as fungi, albeit with a low level of antioxidant activity.

3. Our findings suggest that caffeine and organic acids act as catechin agonists, enhancing the antimicrobial and antifungal effects of *C. sinensis* leaf extracts. Therefore, the lipophilic extract holds promise for the development of future antimicrobial and antifungal drugs.

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about the 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

Ponomarenko S. V., PhD, Leader researcher of Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the NAMS of Ukraine, Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0003-3994-3500

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

Osolodchenko T. P., PhD, Head of Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the NAMS of Ukraine, Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0001-7258-3880

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., 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.

Пономаренко С. В., канд. біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії біохімії та біотехнології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

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

Осолодченко Т. П., канд. біол. наук, зав. лабораторії біохімії та біотехнології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків, Україна.

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

References

- Deusenbery C, Wang Y, Shukla A. Recent Innovations in Bacterial Infection Detection and Treatment. *ACS Infect Dis*. 2021;7(4):695-720. doi: 10.1021/acscinfed.0c00890
- Soni J, Sinha S, Pandey R. Understanding bacterial pathogenicity: a closer look at the journey of harmful microbes. *Front Microbiol*. 2024;15:1370818. doi: 10.3389/fmicb.2024.1370818
- Salam MA, Al-Amin MY, Salam MT, Pawar JS, Akhter N, Rabaan AA, et al. Antimicrobial Resistance: A Growing Serious Threat for Global Public Health. *Healthcare*. 2023;11(13):1946. doi: 10.3390/healthcare11131946
- GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2022;400(10369):2221-48. doi: 10.1016/S0140-6736(22)02185-7
- Bongomin F, Gago S, Oladele R, Denning D. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *J Fungi*. 2017;3(4):57. doi: 10.3390/jof3040057
- Jiang H, Engelhardt UH, Thräne C, Maiwald B, Stark J. Determination of flavonol glycosides in green tea, oolong tea and black tea by UH-PLC compared to HPLC. *Food Chem*. 2015;183:30-5. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.024
- Ahmad RS, Butt MS, Huma N, Sultan MT, Arshad MU, Mushtaq Z, et al. Quantitative and Qualitative Portrait of Green Tea Catechins (Gtc) Through Hplc. *Int J Food Prop*. 2014;17(7):1626-36. doi: 10.1080/10942912.2012.723232
- Zhao T, Li C, Wang S, Song X. Green Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Molecules*. 2022;27(12):3909. doi: 10.3390/molecules27123909
- Siddiqui MW, Sharangi AB, Singh JP, Thakur PK, Ayala-Zavala JF, Singh A, Dhua RS. Antimicrobial Properties of Teas and Their Extracts in vitro. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;56(9):1428-39. doi: 10.1080/10408398.2013.769932
- Namal Senanayake SP. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *J Funct Foods*. 2013;5(4):1529-41. doi: 10.1016/j.jff.2013.08.011
- Johnson R, Bryant S, Huntley AL. Green tea and green tea catechin extracts: An overview of the clinical evidence. *Maturitas*. 2012;73(4):280-7. doi: 10.1016/j.maturitas.2012.08.008
- Sharma A, Gupta S, Sarethy IP, Dang S, Gabrani R. Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Chem*. 2012;135(2):672-5. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.143
- Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*. 2011;82(12):1807-21. doi: 10.1016/j.bcp.2011.07.093
- Maslov O, Komisarenko M, Kolisnyk S, Derymedvid L. Evaluation of Anti-Inflammatory, Antioxidant Activities and Molecular Docking Analysis of *Rubus idaeus* Leaf Extract. *Jordan J Pharm Sci*. 2024;17(1):105-22. doi: 10.35516/jjps.v17i1.1808
- 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. *Vitae*. 2023;30(1):1-9. doi: 10.17533/udea.vitae.v30n1a351486
- 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. Ukrainian. doi: 10.14739/2310-1210.2021.1.224932
- 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. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2021;19(4):40-6. doi: 10.24959/ophcj.21.243782
- 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
- Maslov O, Kolesnik S, Komisarenko M, Altukhov A, Dymnyk K, Kostina T. Development and Validation of a Titrimetric Method for Quantitative Determination of Free Organic Acids in Green Tea Leaves. *Pharmaceutiki*. 2021;33(4):304-11. doi: 10.5281/zenodo.7813135
- Maslov OY. [Phytochemical study and standardization medicines with antioxidant activity from green tea leaves] [dissertation on the Internet]. Kharkiv, Ukraine: National University of Pharmacy; 2023 [cited 2024 Apr 14]. Ukrainian. Available from: <https://nrat.ukrinte.ua/en/searchdoc/0823U100107/>
- Maslov OY, Komisarenko MA, Kolisnyk SV, Golik MY, Doroshenko SR, Tkachenko OV, et al. The study of some quality parameters and the antioxidant activity of dietary supplements with the pomegranate

- extract (*Punica granatum* L.). *News of Pharmacy*. 2023;106(2):5-12. doi: [10.24959/nphj.23.119](https://doi.org/10.24959/nphj.23.119)
22. Volianskyi YL, Hrytsenko IS, Shyrobokov VP, et al. Vychennia spetsyfnichnoi aktyvnosti protymikrobnykh likarskykh zasobiv [Study of the specific activity of antimicrobial drugs]. Kyiv; 2004. 38 p. Ukrainian.
 23. Volianskyi YL, Myronenko LH, Kalinichenko SV, Skliar NI, Kolokolova OB, Tkach LV et al. [Standardization of the preparation of microbial-suspensions]. *Newsletter of innovations in health care* No 163-2006. Kyiv: Ukrmedpatentinform; 2006. 10 p. Ukrainian.
 24. Maslov OY, Komisarenko MA, Ponomarenko SV, Kulisnyk 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](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.285425)



Фармакологічний потенціал 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1-алкіл-1,2,4-тріазолій бромідів

A. С. Гоцуля^{1b}*A,D, O. I. Панасенко^{1b}A,E,F, T. С. Британова^{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

Створення нових похідних 1,2,4-тріазолу є перспективним у галузі розробки інноваційних лікарських засобів. Важливим фактором, який зумовлює вибір дослідників на користь похідних цієї гетероциклічної системи, є можливість створювати хімічні системи з необхідними фармакокінетичними та фармакодинамічними параметрами, що забезпечує необхідний вплив на визначені біологічні мішені. Окремо слід наголосити на порівняно низькому рівні токсичності та невисоких ризиках мутагенності, що властиві тріазоловмісним біологічно активним сполукам. Синергічне поєднання названих характеристик створює сприятливі умови для формування комплексного ефекту, який зрештою дає змогу одержати оригінальну біологічно активну субстанцію та відкриває нові можливості для успішного лікування різних захворювань. Важливим інструментом на шляху до одержання біоактивних молекул, який дає змогу успішно досягнути необхідних результатів, є використання широкого спектра хімічних перетворень і функціоналізацій. У цьому аспекті 1,2,4-тріазол і його похідні надають можливість практичної реалізації повного спектра необхідних хімічних перетворень для формування покращених фармакокінетичних і фармакодинамічних показників.

Мета роботи – попереднє оцінювання можливості створення на основі 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1-алкіл-1,2,4-тріазолій галогенідів біологічно активної субстанції.

Матеріали і методи. Для оцінювання безпеки та потенційної токсичності названих сполук виконали *in silico* аналіз, який реалізовували за допомогою програмного забезпечення T.E.S.T., розробленого Агентством з охорони навколишнього середовища США. Використано SwissADME онлайн-ресурс як ефективний інструмент дослідження фізико-хімічних властивостей і фармакокінетичних параметрів запропонованих для вивчення сполук. Застосовано метод молекулярного докінгу, який використовує різні обчислювальні алгоритми для прогнозування та аналізу взаємодії: визначення можливих місць зв'язування, оцінювання енергії зв'язування та просторового взаємного розташування молекул. Моделі лігандів створено за допомогою програм MarvinSketch 6.3.0, Hyper Chem 8 і AutoDockTools-1.5.6. Для підготовки ензимів для аналізу застосували програмні засоби Discovery Studio 4.0 та AutoDockTools-1.5.6; для прямого молекулярного докінгу – програму Vina, яка дає змогу прогнозувати й оцінювати взаємодію між молекулою-лігандом і тривимірною структурою цільового білка, враховуючи їхню енергетичну та просторову сумісність.

Результати. Здійснено прескринінговий аналіз віртуального набору бромідів 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1-алкіл-1,2,4-тріазолію, які є потенційними кандидатами для наступного синтезу біологічно активних сполук. На предиктивному рівні встановлено загальний рівень токсичності та нешкідливості. Встановили ключові фізико-хімічні характеристики молекул, а також виявлено загальні фармакокінетичні показники, що дає змогу краще зрозуміти їхню взаємодію та поведінку в організмі. Активні центри модельних ферментів проаналізували за допомогою програмного забезпечення Vina, що сприяє кращому розумінню взаємодії ензимів з їхніми субстратами. Відповідно до результатів досліджень, збільшену імовірність формування протизапальних і протиракових властивостей визначають в 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію галогенідів з непарною кількістю атомів Карбону. Найвищою афінністю до ланостерол 14 α -деметилази характеризуються похідні з октильним і нонільним замісниками; це свідчить про певну імовірність виявлення протирибкової активності.

Висновки. Прогноз щодо створення біологічно активної субстанції з використанням 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію галогенідів є досить позитивним. Фармакодинамічні *in silico* дослідження дають змогу ідентифікувати цю групу сполук як потенційне джерело одержання біологічно активних речовин із протизапальною, протирибковою та протираковою активністю.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, властивості, *in silico* дослідження, біологічний потенціал.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 115-121

Pharmacological potential of 3,5-dimethyl-4-(3-(5-nitrofuranyl)allylidenamino)-1-alkyl-1,2,4-triazolium bromides

A. S. Hotsulia, O. I. Panasenko, T. S. Brytanova

The discovery of new 1,2,4-triazole derivatives offers significant potential for the development of innovative medications. Researchers often favor derivatives of this heterocyclic system due to their ability to create chemical structures with desired pharmacokinetic and pharmacody-

ARTICLE INFO



UDC 547.792:223:546.141]:615.015.4
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.302351

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):115-121

Keywords: 1,2,4-triazole, properties, *in silico* studies, biological potential.

*E-mail: andrey.goculya@gmail.com

Received: 19.04.2024 // Revised: 30.04.2024 // Accepted: 06.05.2024

dynamic properties, allowing for targeted effects on specific biological targets. Importantly, biologically active compounds containing triazole have demonstrated relatively low toxicity and minimal risks of mutagenicity. The synergistic combination of these characteristics provides favorable conditions for the development of complex therapeutic effects, ultimately leading to the creation of novel biologically active substances and offering new avenues for the effective treatment of various diseases.

Indeed, the utilization of a diverse array of chemical transformations and functionalizations is crucial for obtaining bioactive molecules with desired properties. In this context, 1,2,4-triazole and its derivatives offer a platform for executing a comprehensive range of chemical transformations, thereby enabling the development of compounds with enhanced pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters.

The aim of the study was to preliminarily assess the possibility of creating a biologically active substance based on 3,5-dimethyl-4-(3-(5-nitrofuranyl)allylidenamino)-1-R-1,2,4-triazole halides.

Materials and methods. *In silico* analysis was used to assess the safety and potential toxicity of the presented compounds, which was implemented using the T.E.S.T. software developed by the US Environmental Protection Agency. SwissADME is an online resource as an effective tool for studying the physicochemical properties and pharmacokinetic parameters of the compounds proposed for study. A molecular docking method that uses a variety of computational algorithms to predict and analyze interactions, including determining the presence of possible binding sites, estimating binding energies, and the spatial arrangement of molecules. The ligand models were created using MarvinSketch 6.3.0, Hyper Chem 8, and AutoDockTools-1.5.6. Discovery Studio 4.0 and AutoDockTools-1.5.6 have been used to prepare the enzymes for analysis. For direct molecular docking, Vina software has been used, which allows predicting and evaluating the interaction between the ligand molecule and the three-dimensional structure of the target protein, taking into account their energy and spatial compatibility.

Results. A virtual set of 3,5-dimethyl-4-(3-(5-nitrofuranyl)allylidenamino)-1-alkyl-1,2,4-triazolium bromides was prescreened, which are potential candidates for the further synthesis of biologically active compounds. The general level of toxicity and harmlessness was determined at the predictive level. The key physicochemical characteristics of the molecules have been determined and the general pharmacokinetic parameters have been identified, which allows for a better understanding of their interaction and behavior in the body. The active sites of the model enzymes were analyzed using Vina software, which contributes to a deeper understanding of the interaction of enzymes with their substrates.

According to the results of the study, an increased probability of the formation of anti-inflammatory and anticancer properties occurs in 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-(3-(5-nitrofuranyl)allylidenamino)-1,2,4-triazolium halides with an odd number of Carbon atoms. Instead, the highest affinity for lanosterol 14 α -demethylase has been demonstrated in the studied derivatives with octyl and nonyl substituents, which shows a certain probability of antifungal activity.

Conclusions. The prognosis for the creation of a biologically active substance using 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-(3-(5-nitrofuranyl)allylidenamino)-1,2,4-triazolium halides is quite favorable.

Keywords: 1,2,4-triazole, properties, in silico studies, biological potential.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):115-121

Дослідження, спрямовані на створення біологічно активних речовин із використанням азотовмісних гетероциклічних систем, є ключовим напрямом у фармацевтичній галузі [1,2,3,4]. Одна з головних переваг гетероциклічних сполук – їхня здатність до доступної хімічної трансформації, що може дати змогу сформува-ти необхідні фізико-хімічні або біологічні властивості [5,6,7,8]. Очікуваним наслідком може бути одержання інноваційного лікарського засобу [9].

Підвищений рівень наукового інтересу дослідників до похідних 1,2,4-тріазолу пов'язаний зі значною фармакологічною різноманітністю, що сприяє створенню необхідних умов і дає змогу розробляти нові лікарські засоби [5,6,7,9,10,11,12,13,14]. Реалізація аналізу ліганд-рецепторної взаємодії дає змогу ідентифікувати ключові точки контакту та визначити оптимальні напрями функціоналізації, спрямовані на покращення афінності, селективності та біологічної активності похідних 1,2,4-тріазолу [15].

Введення до структури цільових молекул аліліденового фрагмента є досить перспективним, враховуючи природу електронних ефектів. Це, своєю чергою, може вплинути на формування певної біологічної відповіді. Додаткове поєднання цього фрагмента з 1,2,4-тріазоло-вим і 5-нітрофурановими синтонами дає змогу ефективно реалізувати гібрид-фармакофорні підходи на шляху до одержання перспективної та оригінальної біологічно активної субстанції. Додаткова поява в структурі названих

сполук алкільного фрагмента створює сприятливі умови для підвищення імовірності формування певної біологічної активності та може мати необхідний вплив на низку важливих фармакокінетичних показників, наприклад, пов'язаних із біодоступністю.

Отже, враховуючи вагомий науковий потенціал 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію галогенідів, дослідження цієї групи сполук для встановлення їхнього фармакологічного профілю є актуальним і практично значущим [16].

Мета роботи

Попереднє оцінювання можливості створення на основі 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1-R-1,2,4-тріазолій галогенідів біологічно активної субстанції.

Матеріали і методи дослідження

Потенційно токсичні сполуки виявляли, використовуючи програмне забезпечення T.E.S.T., що розроблене Агентством з охорони навколишнього середовища США [17]. У цьому дослідженні програму T.E.S.T. застосували для виявлення потенційно токсичних речовин шляхом аналізу їхніх фізико-хімічних властивостей, здатності до накопичення в живих організмах, а також для оцінювання рівня гострої водної токсичності.

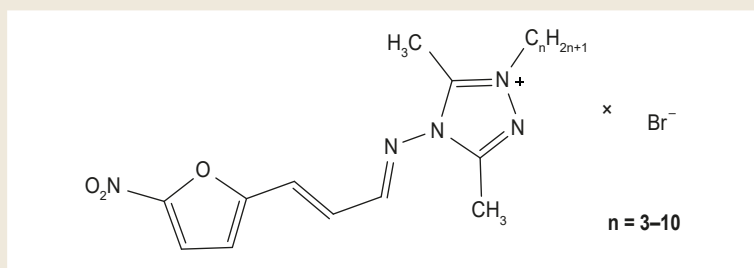


Рис. 1. Структура речовин, які залучені до *in silico* дослідження.

Під час досліджень ADME (поглинання, розподіл, метаболізм, виведення) використали онлайн-програмний пакет SwissADME. Це дало змогу одержати інформацію про різноманітні фармакокінетичні параметри, пов'язані з дослідженими сполуками.

Для докінг-аналізу 3D-моделей лігандів і цільових рецепторів застосували програмний комплекс AutoDockTools [18,19,20]. Структура модельних ферментів отримана з бази даних Protein Data Bank. Процес молекулярного докінгу передбачав три послідовних етапи: підготовки структурних даних лігандів і рецепторів, безпосередньо процесу докінгу, а також аналізу й інтерпретації результатів.

Підготовка ліганду включала кілька етапів:

а) створення структурних формул сполук у форматі *.mol за допомогою MarvinSketch 6.3.0;

б) побудова тривимірних моделей речовин, використовуючи метод молекулярної механіки MM+ і напівемпіричний квантово-механічний метод PM3 з алгоритмом Polak-Ribiere в програмному забезпеченні HyperChem 8;

в) фіксація молекул у форматі *.pdb;

г) конвертація у формат *.pdbqt за допомогою AutoDockTools-1.5.6.

Перед активною роботою з ферментом вжито підготовчих заходів:

а) у модельній структурі виключено такі компоненти, як молекули води та вихідні ліганди; для цього використали Discovery Studio 4.0;

б) конфігурація ферменту збережена у форматі *.pdb;

в) фермент конвертовано у формат *.pdbqt із залученням AutoDockTools-1.5.6.

Далі здійснили молекулярний докінг:

а) процес молекулярного докінгу здійснили за допомогою Vina;

б) результати молекулярного докінгу візуалізовані й проаналізовані графічно за допомогою Discovery Studio 4.0.

Аналіз наукових даних, що одержали у результаті огляду сучасної наукової літератури, дав змогу запропонувати цільову групу сполук для здійснення *in silico* досліджень. Обґрунтовано обрали 1-алкілпохідні 3,5-диметил-4-((3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію броміди (рис. 1).

Результати

Враховуючи значення варіабельності летальних доз, що одержали внаслідок обчислення, можна включити розглянуті сполуки до групи речовин, що не є потенційно високо небезпечними для спричинення та розвитку отруєння. Інтервал прогнозованих напівлетальних доз становив 358,24–665,24 мг/кг (табл. 1). Найменше розраховане значення LD₅₀ (щури, пероральне введення) належить 1-гексил-3,5-диметил-4-((3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазол-1-ій броміду (4), що дає змогу визначити цю сполуку як прогнозовано найбільш токсичну в ряду. Разом із тим встановили, що порівняно найменш небезпечним можна попередньо вважати 1-децил-3,5-диметил-4-((3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазол-1-ій бромід).

Таблиця 1. *In silico* оцінювання токсичності синтезованих сполук

LC ₅₀ (<i>Daphnia magna</i>), 48 год, log ₁₀ моль/л / мг/л	LC ₅₀ (<i>Pimephales promelas</i>), 96 год, log ₁₀ моль/л / мг/л	Мутагенність	LD ₅₀ (щури, пероральне введення), мг/кг / моль/кг
5,21 / 1,89	6,94 / 3,53 × 10 ⁻²	1,01 / +	372,32 / 2,71
5,34 / 1,45	7,21 / 1,96 × 10 ⁻²	1,01 / +	360,01 / 2,95
5,35 / 1,49	7,36 / 1,44 × 10 ⁻²	0,76 / +	362,74 / 2,96
5,45 / 1,24	7,52 / 1,05 × 10 ⁻²	0,75 / +	358,24 / 2,99
5,52 / 1,08	7,04 / 3,27 × 10 ⁻²	0,79 / +	585,23 / 2,79
5,62 / 0,89	7,13 / 2,8 × 10 ⁻²	0,78 / +	595,28 / 2,80
5,73 / 0,72	7,18 / 2,57 × 10 ⁻²	0,62 / +	655,49 / 2,77
5,84 / 0,59	6,98 / 4,19 × 10 ⁻²	0,62 / +	665,24 / 2,78

Таблиця 2. ADME аналіз досліджених сполук

Показник	1	2	3	4	5	6	7	8
Csp ³	0,36	0,40	0,44	0,47	0,50	0,53	0,55	0,57
ЧОЗ	6	7	8	9	10	11	12	13
MP	94,75	99,55	104,36	109,17	113,97	118,78	123,59	128,39
TPSA, Å ²	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02	93,02
iLogP	-2,95	-2,81	-2,66	-3,05	-2,59	-2,48	-1,55	-1,81
XLogP3	4,16	4,51	5,05	5,60	6,14	6,68	7,22	7,76
WLogP	-0,86	-0,47	-0,08	0,31	0,70	1,09	1,48	1,87
MLogP	2,35	2,60	2,84	3,08	3,31	3,53	3,75	3,97
SILICOS-IT	0,46	0,85	1,24	1,64	2,04	2,45	2,86	3,27
Log Po/w	0,63	0,94	1,28	1,52	1,92	2,25	2,75	3,01
Lipinski	+	+	+	+	+	-	+	+
Ghose	-	-	+	+	+	+	+	-
Veber	-	+	+	+	+	-	-	-
Egan	+	+	+	+	+	+	+	+
Muegge	+	-	-	-	-	-	-	-
Біодоступність	0,55							
ШКА	В	В	В	В	Н	В	В	В
ГЕБ	-	-	-	-	-	-	-	-
P-gp	-	-	-	-	-	-	-	-
Log Kp, см/с	-5,69	-5,53	-5,23	-4,92	-4,63	-4,33	-4,03	-3,73
PAINS	0	0	0	0	0	0	0	0
Фільтр Бренка	-	-	-	-	-	-	-	-

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

аміно)-1,2,4-тріазол-1-ій бромід (8) із зафіксованим показником LD₅₀ на рівні 665,24 мг/кг (табл. 1).

Аналіз фізико-хімічних показників, які включають кількість sp³-гібридних атомів Карбону, молекулярну рефракцію та топологічну площину полярної поверхні, дає змогу визначити одержані результати як такі, що повністю відповідають необхідним критеріям і формують позитивний прогноз щодо біодоступності в разі перорального застосування (табл. 2). Разом із тим, лише сполуки 1–4 відповідають необхідному інтервалу значень, пов'язаних із кількістю обортових зв'язків. Тобто тільки ці сполуки мають максимально сприятливу здатність утворювати необхідну конформацію у місці зв'язування з білком-мішенню (табл. 2). Значення iLogP формуються в прийнятному інтервалі та вказують на можливість транспортуватись через клітинні мембрани та долати біологічні бар'єри. Інший фармакокінетичний показник – Кр – показує обмежені перспективи щодо введення досліджених речовин до м'яких лікарських форм, що підтверджують дані в інтервалі -3,73 ... -5,69 см/с. Усі речовини, що вивчали, не є субстратом до Р-глікопротеїну. Цей білок є важливим компонентом бар'єрних систем в організмі, зокрема він забезпечує захист

центральної нервової системи від потенційно шкідливих речовин, які можуть потрапити до мозку. Коли сполуки стають субстратами для Р-глікопротеїну, то це означає, що вони можуть бути виведені з клітин за допомогою цього білка.

Аналіз результатів подолання фільтрів, що використовує платформа SwissADME та поширені серед відомих фармацевтичних виробників, показав загальну позитивну динаміку їх подолання. Тільки фільтр Мугге мав певні обмеження (табл. 2).

Використання критеріїв Еббот для додаткового визначення біодоступності показало, що досліджені речовини повинні мати всмоктування у шлунково-кишковому тракті щурів, еквівалентне 1/10 від одержаної дози. Загалом очікується висока пасивна адсорбція у шлунково-кишковому тракті, крім речовини 5, щодо якої визначено низьку ймовірність надходження до організму людини цим шляхом. Водночас усі речовини, що вивчали, визначено як нездатні подолати гематоенцефалічний бар'єр.

Серед структур, які вивчали, не виявлено сполук, що набувають ознак PAINS (Pan-Assay Interference Compounds). Це виключає формування помилкових або неточних результатів під час досліджень.

Відповідно до результатів аналізу, що показали нездатність усіх досліджених сполук подолати фільтр лікопідності Бренка, можна попередньо припустити причини цього явища. Так, насамперед привертає увагу наявність ненасичених зв'язків в аліліденовому фрагменті, що визначає підвищену реакційну здатність молекули. Це підвищує ймовірність утворення токсичних проміжних метаболітів.

Також привертає увагу NO_2 -група, що, як відомо, сприяє посиленню токсичних властивостей молекули.

Аналіз результатів молекулярного докінгу досліджених сполук до активного центру циклооксигенази-2 дав змогу визначити цікаву особливість похідних із непарною кількістю атомів Карбону в алкільному заміснику – активнішу здатність до взаємодій із циклооксигеназою-2 (ЦОГ-2) порівняно зі сполуками з парною кількістю атомів Карбону (табл. 3).

Подібну закономірність встановили й під час визначення природи амінокислотних залишків, які залучали у процес формування зв'язків і типів хімічних зв'язків: молекули з непарною кількістю Карбонів в алкільному заміснику характеризуються здатністю формувати ширший спектр хімічних зв'язків, що формуються за участю значної кількості амінокислотних залишків. Наприклад, координацію в активному центрі сполуки **9** визначають такими типами хімічних зв'язків:

1) міжмолекулярним водневим хімічним зв'язком, який утворюється за участю атомів Оксигену нітрогрупи 5-нітрофуранового синтону та амінокислотних залишків аргініну (ARG A: 514), проліну (PRO A: 86) та тирозину (TYR A: 356);

2) π -аніонною взаємодією, що виникає завдяки залученню залишку глутамінової кислоти (GLU A: 525) до контакту з π -електронною системою фуранового фрагмента;

3) алкільними зв'язками, що виникають у разі залучення залишків аланіну (ALA A: 528), валіну (VAL A: 350, VAL A: 524), лейцину (LEU A: 353), метіоніну (MET A: 523), фенілаланіну (PHE A: 519) та триптофану (TRP A: 388);

4) π -алкільними зв'язками, що утворюються за участю залишків валіну (VAL A: 89) у координації з π -хімічним зв'язком фуранового фрагмента.

Молекулярний докінг сполук, що вивчали, до центрів зв'язування з ланостерол 14 α -деметилазою показав: подовження карбонового ланцюга алкільного замісника поступово збільшує можливість активного впливу на цей фермент (табл. 4). Серед активних сполук, найімовірніше, може бути речовина **6**. Аналіз взаємодій дає змогу ідентифікувати природу хімічних зв'язків, що при цьому формуються. Так, ідентифіковано лише гідрофобні взаємодії, серед них переважають алкільні та π -алкільні. Перший тип реалізується за участю залишків аланіну (ALA A: 400), лейцину (LEU A: 315, LEU A: 321), проліну (PRO A: 320), фенілаланіну (PHE A: 387), а також цистеїну (CYS A: 394). Другий – за участю залишків аланіну (ALA A: 256), лейцину (LEU A: 321) та тирозину (TYR A: 76). Окремо зауважимо, що участь у

Таблиця 3. Енергія міжмолекулярних взаємодій досліджених сполук із ЦОГ-2

№	E_{\min}	№	E_{\min}	№	E_{\min}
1	-7,5	3	-7,3	6	-3,8
2	-5,8	4	-6,4	7	-7,4
Диклофенак	-8,4	5	-7,4	8	-2,0

* E_{\min} : мінімальна енергія комплексоутворення, ккал/моль.

Таблиця 4. Енергія міжмолекулярних взаємодій досліджених сполук із ланостерол 14 α -деметилазою

№	E_{\min}	№	E_{\min}	№	E_{\min}
1	-7,5	3	-8,6	6	-9,6
2	-7,8	4	-8,4	7	-9,5
Флуконазол	-10,8	5	-8,1	8	-7,4

* E_{\min} : мінімальна енергія комплексоутворення, ккал/моль.

Таблиця 5. Енергія міжмолекулярних взаємодій досліджених сполук із кіназою анапластичної лімфоми

№	E_{\min}	№	E_{\min}	№	E_{\min}
1	-7,9	3	-8,2	6	-6,2
2	-7,6	4	-6,5	7	-8,2
Кризотиніб	-9,4	5	-7,9	8	-6,2

* E_{\min} : мінімальна енергія комплексоутворення, ккал/моль.

цьому типі взаємодії реалізується і за участю π -зв'язків аліліденового фрагмента, і за участю π -зв'язку фуранового синтону. Серед інших типів взаємодій окремо виявлено міжмолекулярні водневі хімічні зв'язки, що утворюються між атомом Оксигену нітрогрупи фуранового фрагмента та Гідрогенами залишків цистеїну (CYS A: 394).

За результатами докінгу речовин, що вивчали, до центру зв'язування з кіназою анапластичної лімфоми, жодна з цих речовин не має значення мінімальної енергії комплексоутворення на рівні кризотинібу як препарату порівняння. Однак встановлено загальну закономірність, що передбачає: похідні з непарною кількістю атомів Карбону в алкільному заміснику є більш потенційними претендентами для дослідження; це пов'язано з виявленням протиракових властивостей (табл. 5). Серед найперспективніших претендентів для наступних досліджень – сполука **3**, що має такі типи міжмолекулярної взаємодії:

1) алкільні контакти, які утворюються за участю залишків аланіну (ALA A: 1148) та лейцину (LEU A: 1122, LEU A: 1198), що координуються з алкільним замісником;

2) π -алкільні контакти, які формуються за участю залишків лізину (LYS A: 1150) та валіну (VAL A: 1130) та π -електронної системи фуранового синтону;

3) амід π -стекингові процеси, що активно виявляються у контактах залишків гліцину (GLY A: 1269) з ароматичною системою фуранового кільця.

Підтримують названі контакти ван дер Ваальсові сили міжмолекулярної взаємодії, що реалізуються за участю залишків аспарагінової кислоти (ASP A: 1270).

Обговорення

Проведені *in silico* дослідження токсикологічних характеристик речовин, які вивчали, за допомогою онлайн-ресурсу Т.Е.С.Т. дають підстави зробити висновок: подовження карбонового ланцюга, що формує замісник при першому атомі Нітрогену тріазолового синтону, супроводжується зменшенням імовірної токсичності в ряду 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію галогенідів.

Оцінювання результатів аналізу фізико-хімічних показників підтвердило досить сприятливий прогноз щодо біодоступності дослідженого ряду сполук у разі їх перорального застосування. Втім, оптимальний характер будови молекули мають саме 1-метил-, 1-етил-, 1-пропіл і 1-бутилпохідні цієї гетероциклічної системи, що позначається на максимально сприятливій конформативній здатності для зв'язування з рецепторами органа-мішені. Додатково зазначимо, що, незважаючи на загальні позитивні тенденції щодо подолання біологічних бар'єрів і клітинних мембран, проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр є малоімовірним.

За результатами молекулярного докінгу сполук, що вивчали, до ЦОГ-2, є сенс звернути особливу увагу на похідні 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію броміди з непарною кількістю атомів Карбону в заміснику за першим положенням тріазолового синтону, оскільки ці сполуки мають значущий потенціал протизапальної активності.

Аналіз докінгових взаємодій із ланостерол 14 α -деметилазою показав сприятливий вплив, що виявляється внаслідок збільшення довжини названого алкільного замісника на формування імовірної протигрибкової активності.

Менш перспективними є результати докінгу досліджених речовин до центру зв'язування з кіназою анапластичної лімфоми. Втім, як і для ЦОГ-2, імовірніше, активними можуть виявитись алкілпохідні в ряду сполук, що вивчали, саме з непарною кількістю атомів Карбону. Це потрібно врахувати під час наступних досліджень сполук цієї групи.

Висновки

1. Прогноз щодо створення біологічно активної субстанції з використанням 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-(3-(5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1,2,4-тріазолію галогенідів є досить позитивним.

2. Фармакодинамічні *in silico* дослідження дають змогу ідентифікувати цю групу сполук як потенційне джерело одержання біологічно активних речовин із протизапальною, протигрибковою та протираковою активністю.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Information about the authors:

Hotsulia A. S., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

Panasenko O. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

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

ORCID ID: [0000-0003-1805-4552](https://orcid.org/0000-0003-1805-4552)

Відомості про авторів:

Гоцуля А. С., д-р фарм. наук, доцент каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Британова Т. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

1. Elmongy EI, Alanazi WS, Aldawsari AI, Alfaouri AA, Binsuwaidan R. Antimicrobial Evaluation of Sulfonamides after Coupling with Thienopyrimidine Coplanar Structure. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(2):188. doi: [10.3390/ph17020188](https://doi.org/10.3390/ph17020188)
2. 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.
3. 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. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2021;45(3):504-14. doi: [10.33483/jfpau.939418](https://doi.org/10.33483/jfpau.939418)
4. Samelyuk Y, Kaplaushenko A. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, Containing methoxyphenyl substituents at c5atoms, Their antipyretic activity, Propensity to adsorption and acute toxicity. *J Chem Pharm Res*. 2014;6(5):1117-21.
5. Safonov A. Method of synthesis novel N-substituted 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetohydrazides. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2020;44(2):242-52. doi: [10.33483/jfpau.580011](https://doi.org/10.33483/jfpau.580011)
6. Gotsulya A, Zazharskyi V, Parchenko V, Davydenko P, Kulishenko O, Brytanova T. N'-(2-(5-((theophylline-7-yl)methyl)-4-ethyl-1,2,4-triazole-3-ylthio)-acetyl)isonicotinohydrazide as antitubercular agents. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2022;42(3):149-55. doi: [10.52794/hujpharm.1011368](https://doi.org/10.52794/hujpharm.1011368)
7. Demchenko S, Lesyk R, Yadlovskiy O, Holota S, Yarmoluk S, Tsyhanov S, et al. Fused triazole-azepine hybrids as potential non-steroidal antiinflammatory agents. *Scientia pharmaceutica*. 2023;91(2):26-6. doi: [10.3390/scipharm91020026](https://doi.org/10.3390/scipharm91020026)
8. 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):18-25. doi: [10.15587/2519-4852.2022.255848](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.255848)
9. Abdellatif KR, Abdelal EK, Elshemy HA, Philoppes JN, Hassanein EH, Kahk NM. Optimization of pyrazole-based compounds with 1,2,4-triazole-3-thiol moiety as selective COX-2 inhibitors cardioprotective drug candidates: Design, synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory, ulcerogenicity, cardiovascular evaluation, and molecular modeling studies. *Bioorg Chem*. 2021;114:105122. doi: [10.1016/j.bioorg.2021.105122](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105122)
10. Fadaly WA, Elshaier YA, Hassanein EH, Abdellatif KR. New 1,2,4-triazole/pyrazole hybrids linked to oxime moiety as nitric oxide donor

- celecoxib analogs: Synthesis, cyclooxygenase inhibition anti-inflammatory, ulcerogenicity, anti-proliferative activities, apoptosis, molecular modeling and nitric oxide release studies. *Bioorg Chem.* 2020;98:103752. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.103752](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103752)
11. Bian M, Ma QQ, Wu Y, Du HH, Guo-Hua G. Small molecule compounds with good anti-inflammatory activity reported in the literature from 01/2009 to 05/2021: a review. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2021;36(1):2139-59. doi: [10.1080/14756366.2021.1984903](https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1984903)
 12. Azim T, Wasim M, Akhtar MS, Akram I. An in vivo evaluation of anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activities of newly synthesized 1, 2, 4 Triazole derivatives. *BMC Complement Med Ther.* 2021;21(1):304. doi: [10.1186/s12906-021-03485-x](https://doi.org/10.1186/s12906-021-03485-x)
 13. 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)
 14. Fedotov SO, Hotsulia AS. Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2023;16(2):121-9. doi: [10.14739/2409-2932.2023.2.279460](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460)
 15. Chekman IS, Nebesna TY, Symonov PV. In silico: novyi napriam v rozrobtsi 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.
 16. Brytanova TS. [Synthesis, chemical and biological properties of derivatives of 4-benzylidenamino- and 4-(furan-2-yl)methylenamino)-1-R-4H-1,2,4-triazolium halogenides] [dissertation on the Internet]. Zaporizhzhia: Zaporozhye State Medical University; 2012 [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://nrat.ukrintei.ua/en/search-doc/0412U003044/>
 17. US EPA O. Toxicity Estimation Software Tool (TEST) [Internet]. www.epa.gov. 2015. Available from: <https://www.epa.gov/comptox-tools/toxicity-estimation-software-tool-test>
 18. Biovia [Internet]. Dassault Systèmes. 2023 [cited 2024 Apr 11]. Available from: <http://www.3dsbiovia.com>
 19. ChemAxon – Software Solutions and Services for Chemistry & Biology [Internet]. chemaxon.com. Available from: <http://www.chemaxon.com>
 20. Protein Data Bank [Internet]; [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://www.rcsb.org/>



The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves

O. Ye. Matsehorova *^{A,B,C,D}, V. M. Odyntsova ^{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

Myrtus communis L. is a promising medicinal plant that has garnered the attention of scientists to introduce it into industrial cultivation as a raw material source for obtaining new phytopreparations. In its chemical composition, *Myrtus communis* L. contains many biologically active substances, which confer upon it a range of medicinal properties including astringent, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, antifungal, antioxidant, antidiabetic, antiulcer, antimutagenic, gastro- and hepatoprotective properties. Published information primarily focuses on the chemical composition and pharmacological activity of common myrtle, with limited data available on its micromorphology.

The aim of the work is to study the morphological and anatomical structure and to determine the general diagnostic microscopic features of common myrtle leaves.

Materials and methods. The object of the research was fresh and dried plant material of common myrtle grown under room conditions. Transverse sections were fixed with Carnois fixative, dehydrated, and paraffinized. The sections were then cut using a Microm HM 325 microtome, followed by deparaffinization. Microscopic analysis of the leaf was performed using temporary preparations on a Carl Zeiss microscope, including the “AxioStar Plus” and “Primo Star”, equipped with a photo attachment for direct and reflected light microscopy.

Results. The external features of common myrtle leaves include their shape, color, size, smell, and type of veining. Anatomically, the leaves exhibit a cuticle, dorsiventral mesophyll, and anomocytic stomata located on the abaxial surface. Additionally, they contain calcium oxalate crystals and druses, as well as simple hairs on the midvein and schizolisogenic secretory receptacles. Histochemical studies of these cavities indicate the presence of lipophilic substances.

Conclusions. The morphological and anatomical analysis of *Myrtus communis* L., a representative of the myrtle genus, allowed for the identification of key diagnostic microscopic features of myrtle leaves. Further research prospects involve conducting a comprehensive set of phytochemical studies to establish standardization parameters for medicinal plant raw materials.

Keywords: *Myrtus communis* L., plant leaf, leaf anatomy, macro- and microscopic analysis.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):122-130

Анатомічна та мікроморфологічна будова листя *Myrtus communis* L.

О. Є. Мацегорова, В. М. Одинцова

Myrtus communis L. – перспективна лікарська рослина, яка привертає увагу науковців для введення в промислову культуру, оскільки є сировинним джерелом для отримання нових фітопрепаратів. У хімічному складі *Myrtus communis* L. – чимало біологічно активних речовин, що зумовлюють в'язучі, протизапальні, протівірусні, антибактеріальні, протигрибкові, антиоксидантні, протидіабетичні, протівіразкові, антимутагенні, гастро- та гепатопротекторні властивості. Опубліковані дані стосуються передусім хімічного складу та фармакологічної активності мирту звичайного, а відомостей щодо мікроморфології майже немає.

Мета роботи – дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних діагностичних мікроскопічних ознак листя мирту звичайного.

Матеріали і методи. Об'єкт досліджень – свіжа та висушена рослинна сировина мирту звичайного, вирощеного в кімнатних умовах. Для отримання поперечних зрізів препарати фіксували фіксатором Карнуа, зневоднювали й парафінували. Поперечні зрізи зробили за допомогою мікротому Microm HM 325 з наступною депарафінізацією. Мікроскопічний аналіз виконали з тимчасовими препаратами листка на мікроскопі Carl ZEISS «AxioStar Plus» та «Primo Star» із фотонасадкою для роботи у прямому й відбитому світлі.

Результати. Наведено зовнішні ознаки листя мирту звичайного: форму, колір, розмір, запах, тип жилкування. Анатомічні особливості листка включають наявність кутикули, дорзівентральний мезофіл, аномоцитні прориди, які розташовані на абаксальній поверхні

ARTICLE INFO



UDC 615.322:582.776.2:581.45].07
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.298403](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.298403)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):122-130

Keywords: *Myrtus communis* L., plant leaf, leaf anatomy, macro- and microscopic analysis.

*E-mail: olya.matsegorova@gmail.com

Received: 13.02.2024 // Revised: 05.03.2024 // Accepted: 14.03.2024

листка, кристали та друзи оксалату кальцію, прості волоски на середній жилці, схізологігенні секреторні вмістища. Гістохімічні дослідження цих порожнин дають підстави припустити наявність ліпофільних речовин.

Висновки. Морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L. дав змогу визначити загальні діагностичні мікроскопічні ознаки листя мирту. Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні комплексу фітохімічних досліджень для встановлення параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини.

Ключові слова: *Myrtus communis* L., листя рослин, анатомічна будова листя, макро- та мікроскопічний аналіз.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 122-130

Plant extracts and products derived from plants are valuable resources extensively utilized in the treatment of various ailments. Myrtle (*Myrtus communis* L.) is a medicinal plant commonly found in coastal areas of Mediterranean regions, including North Africa and Southern Europe. It also grows in South America, Australia, and certain areas of the Himalayas [1]. Belonging to the family *Myrtaceae* (*Myrtaceae*), which encompasses around 3000 species, common myrtle typically grows as an evergreen shrub or a small tree, reaching heights of up to 2.5 meters.

Myrtle has gained widespread use in the pharmaceutical and food industries due to its rich content of biologically active compounds. The chemical composition of *Myrtus communis* L. includes essential oils, such as terpenoids (particularly α -pinene, 1,8-cineole, geranyl acetate, and linalool) [2,3], flavonoids (quercetin, catechin, myricetin derivatives, and anthocyanins), coumarins, oligomeric non-prenylated acylphloroglucin compounds (including myrtucommulone A and B and semimyrtucommulone), haloal glucosides, ellagitannins, haloalquinic acids, caffeic acid, gallic acid, ellagic acid, and fatty acids (such as linoleic, palmitic, oleic, and stearic acids) [4,5,6].

Myrtle preparations offer a wide range of therapeutic benefits, including astringent, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, antifungal, antidiabetic, antioxidant, gastro- and hepatoprotective properties. As a result, myrtle is effectively used in the treatment of various conditions, including wounds, gastrointestinal diseases, respiratory ailments, urinary tract disorders, rheumatism, diabetes, hypertension, periodontal diseases, and cancer [1,7,8,9,10,11,12,13,14,15].

Myrtle essential oil demonstrated exceptional activity against chronic toxoplasmosis induced by the Tehran *Toxoplasma gondii* strain in mice [16].

Microencapsulated essential oil of the leaves of *Myrtus communis* L., consisting mainly of myrtenyl acetate (30.6%), linalool (14.9%), α -pinene (11.10%), and 1,8-cineole or eucalyptol (9.9%), showed a powerful anti-inflammatory and antioxidant effect on the gastric mucosa, potentially enabling its use for the treatment of acute gastric ulcers [17].

The results of the research conducted by M. A. Mir et al. demonstrated that *M. communis* leaf extract had a strong inhibitory effect on Gram-positive and acid-fast bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Mycobacterium smegmatis*) with a significant size of the inhibition zone, suggesting its potential as a source of compounds for treating gram-positive bacterial infections in the future [18].

The published information on the chemical composition of *Myrtus communis* L. mainly focuses on studies of specific classes of natural compounds, particularly essential oils and flavonoids. However, microscopic analysis plays a crucial role in pharmacognostic research. When anatomical differences are identified, it becomes essential to develop analytical methods for medicinal plant raw materials. Therefore, it is relevant to determine the diagnostic features of common myrtle to establish parameters for the standardization of medicinal plant raw materials.

Aim

The purpose of the work is to study the morphological and anatomical structure and to determine the general diagnostic microscopic features of common myrtle leaves.

Materials and methods

For microscopic studies, fresh and dried plant material of common myrtle, cultivated under room conditions at the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, was utilized. Mature leaves were collected randomly. Subsequent microscopic research was conducted at the Phytochemical Laboratory of the Educational and Scientific Medical and Laboratory Center with a vivarium at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Illumination of microscopic preparations was achieved by heating the samples in an aqueous solution of 3% sodium hydroxide (Ukrchemgroup, Spain, series number CAS 1310-73-2) [19]. To obtain transverse sections, fixation was carried out using freshly prepared cool Carnois fixative (consisting of alcohol 96% (PR JSC BIOLIK, Ukraine), chloroform (Chloroform Pharm, France, series number TAP 1705155) and acetic acid (LLC "VVV" PCC, Ukraine) in a ratio of 6:3:1) [20,21], which exceeded the volume of the studied objects by 15 times (for 20 objects, 80 ml fixative), and left for approximately two hours, followed by washing with three portions of 70% ethanol. The fixed material underwent dehydration using graded ethanol (10–100%) and chloroform, then it was infiltrated and embedded in paraffin (Thermo Scientific Inc., UK) in a thermostat at a constant temperature of 56 °C. Transverse sections were cut using a mechanical rotary microtome Microm HM 325 (Germany) at 5 μ m and placed on microscope slides. Subsequently, deparaffinization was performed in two portions of xylene (Shanghai Synnad, China), each for 5 minutes, followed by washing in distilled water and soaking for 10 minutes in 96%, 80%, and 70% ethyl alcohol.



Fig. 1. External view of the leaves of *Myrtus communis* L.



Fig. 2. Macroscopic analysis of the length of the common myrtle leaf plate.



Fig. 3. Macroscopic analysis of the width of the common myrtle leaf plate.

Carl ZEISS “AxioStar Plus” and “Primo Star” microscopes equipped with objectives of $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, and $\times 100$ magnification were utilized for examination under both direct and reflected light. A digital camera AxioCam ERc 5s was employed to record the research findings. Anatomical studies were conducted in statistically significant quantities, with a minimum of 10 observations made for each object.

To identify the localization of the essential oil, a histochemical reaction was conducted using Sudan III (LLC “Trubosnab”, Ukraine) solution, which stains the oil-containing structures in an orange-red color [22].

During the microscopic examination of medicinal plant raw materials, attention was focused on the type of leaf blade, the structure of epidermal cells, the presence, number, and type of stomata, as well as the characteristics of hairs and glands.

Results

During the macroscopic analysis, it was determined that the leaves of common myrtle are simple, oblong, lanceolate, or ovoid-elliptic with entire or slightly rounded margins and acute tips, with a rounded or slightly uneven base (Fig. 1). They are arranged oppositely, sessile, or semi-sessile. The upper surface of the leaves is dark green with a glossy texture, while the lower surface is green. The length ranges from 0.5 to 3.5 cm (Fig. 2), and the width ranges from 0.2 to 2.0 cm (Fig. 3). The thickness of the leaf blade is $293.93 \pm 2.59 \mu\text{m}$. It was observed that the leaves exhibit numerous secondary and tertiary reticulate veins. The venation pattern is brochidodromous (pinnate-loop-like), where the veins extend to the leaf margin, joining with the anterior vein, forming a loop that is barely visible

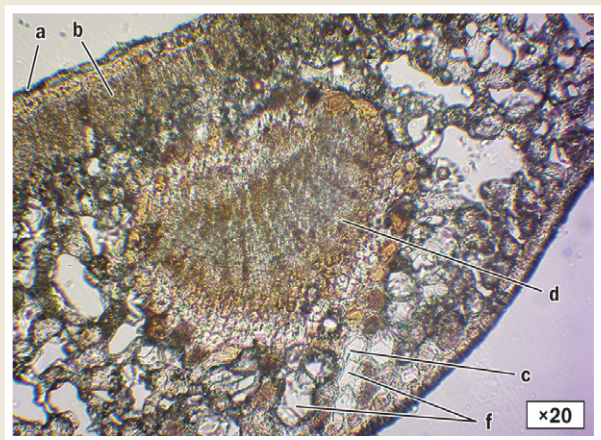
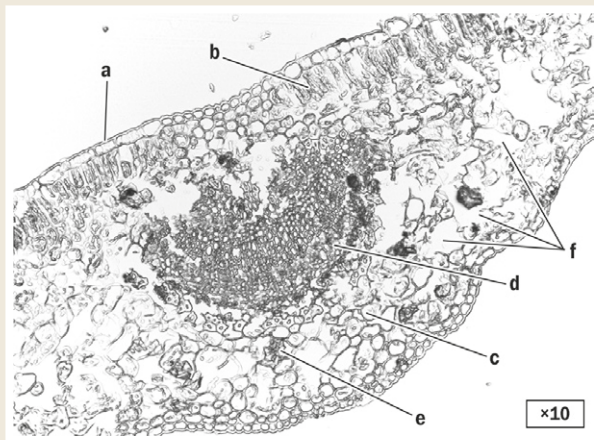


Fig. 4. Transverse section of a leaf plate of *Myrtus communis* L. a: cuticle; b: columnar mesophyll of the epidermis; c: spongy parenchyma; d: closed collateral conducting bundle; e: calcium oxalate drusen.

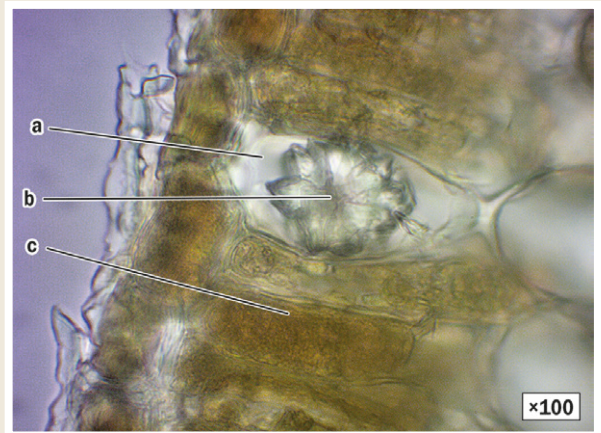
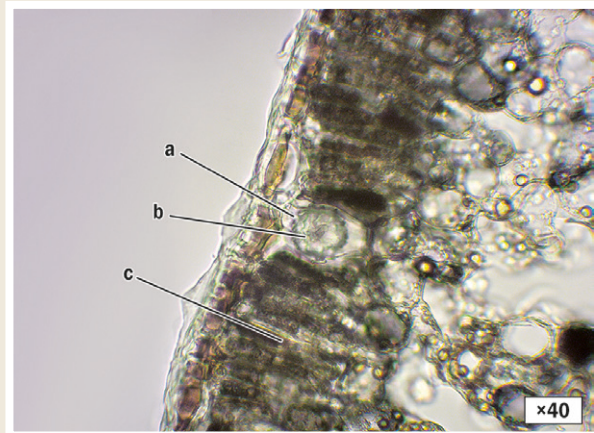


Fig. 5. Cross-section of common myrtle leaves. Subepidermal idioblast containing calcium oxalate drusen. a: idioblast; b: calcium oxalate drusen; c: columnar mesophyll.

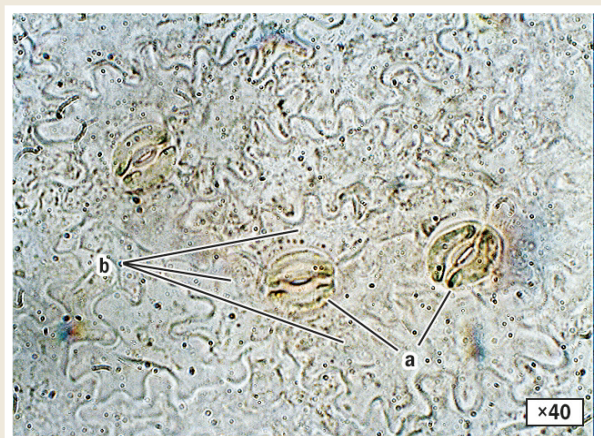
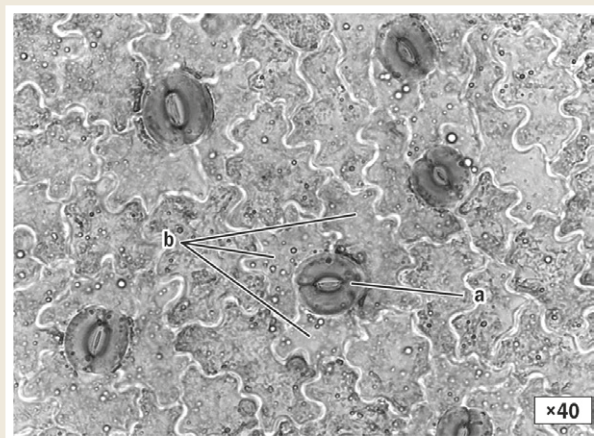


Fig. 6. A fragment of the lower epidermis of a leaf. a: stomata; b: near stomatal cells.

externally. The leaves emit a characteristic balsamic aroma upon crushing, attributed to the presence of numerous secretory receptacles.

When examining cross-sections of fresh leaves microscopically, a distinct cuticle is noticeable on the surface (Fig. 4, a). The adaxial and abaxial epidermal cells appear

compressed, flat convex, and mostly isodiametric. The leaf was determined to be dorsoventral bifacial based on the location of the columnar mesophyll, with the palisade parenchyma positioned beneath the upper side of the leaf blade (Fig. 4, b). The mesophyll exhibits differentiation into palisade tissue and spongy parenchyma (Fig. 4, c). The

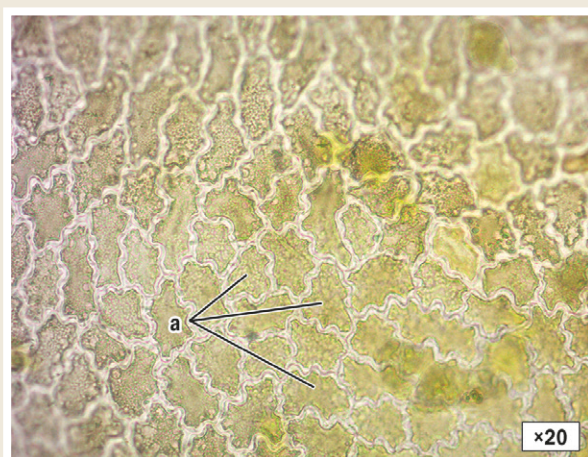


Fig. 7. A fragment of the upper epidermis of a leaf. a: epidermal cells.

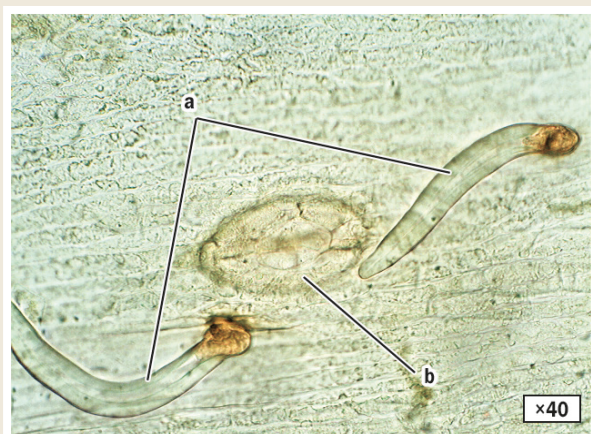


Fig. 8. A fragment of the epidermis of the middle vein of a leaf. a: trichomes; b: secretory container.

palisade tissue comprises somewhat dense, highly elongated cells densely packed with chloroplasts, characterized by thin primary cell walls. A distinct layer of collecting cells is observed between the palisade and spongy tissues, facilitating the transport of carbohydrates synthesized in the palisade cells to the spongy parenchyma. The cells of the spongy tissue are isodiametric in shape, elongated, and adjacent to the lower epidermis. Large intercellular spaces are evident

between them (Fig. 4, f), which are comparable in size to the cavities' airiness. The arrangement of tissues within the leaves serves as a diagnostic feature. Closed, rounded conductive bundles (Fig. 4, d) are present in the leaf, with a coating formed by cells with significantly thickened walls on the phloem side. Subepidermal idioblasts containing calcium oxalate crystals (druses) are distributed throughout the columnar parenchyma (Fig. 5).

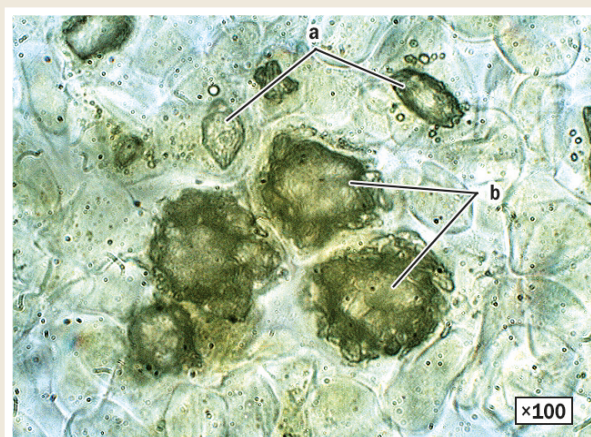
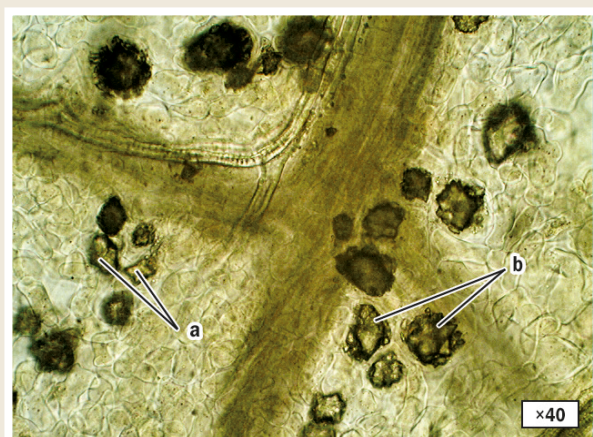


Fig. 9. Drusen and calcium oxalate crystals. a: calcium oxalate crystals; b: calcium oxalate drusen.

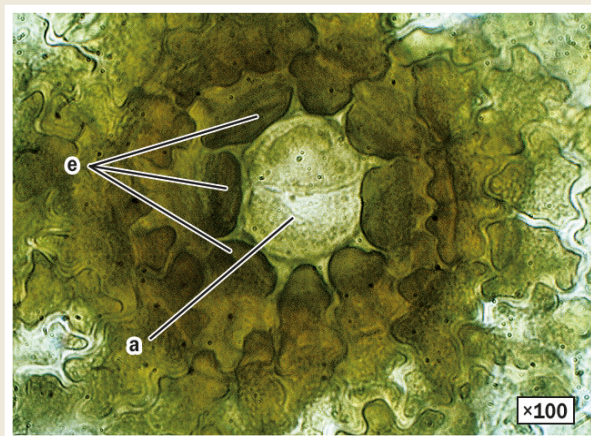
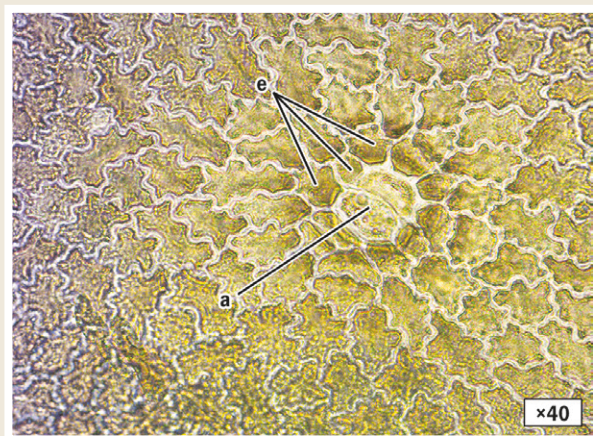
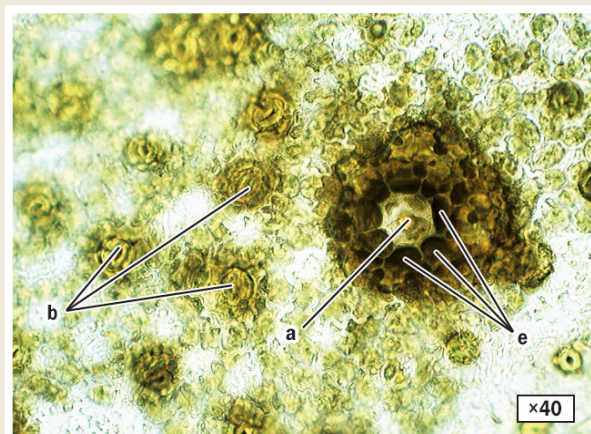
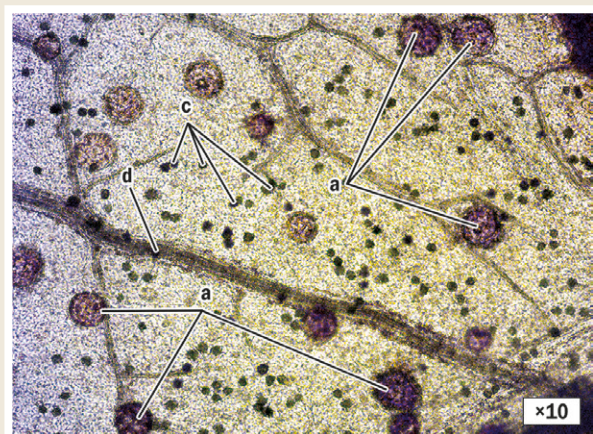


Fig. 10. Schizolisogenic secretory receptacles. a: schizolisogenic secretory receptacle; b: stomata; c: calcium oxalate drusen; d: central vein; e: epithelial cells located above the receptacles.

Stomata are predominantly located on the lower side of the leaf, indicating a hypostomatic type. The abaxial surface is characterized by deeply convoluted epidermal cells housing anomocytic stomata (Fig. 6, a) of oval-round shape. These stomata are surrounded by 3–5 epidermal cells (Fig. 6, b) and are positioned at the same level as the surrounding epidermal cells. The guard cells exhibit a kidney shape, and the lumen between them is constricted at the equato-

rial part. Stomata are uniformly distributed across the leaf surface.

The cells of the upper epidermis appear larger than those of the lower epidermis (Fig. 7, a). The upper epidermis consists of isodiametric or slightly elongated cells with thickened, sinuous walls. Notably, the adaxial surface of the leaf is devoid of trichomes, whereas the abaxial surface exhibits a sparse distribution of trichomes along the midvein (Fig. 8, a).

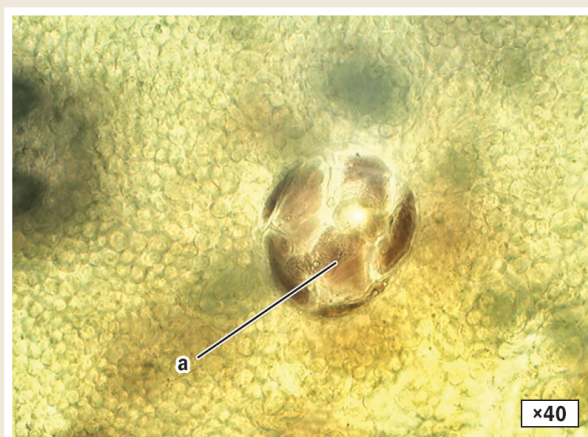
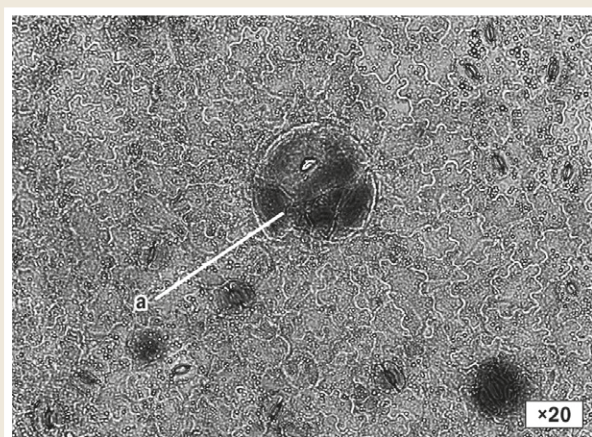


Fig. 11. Idioblast with resin-oil content. a: idioblast.

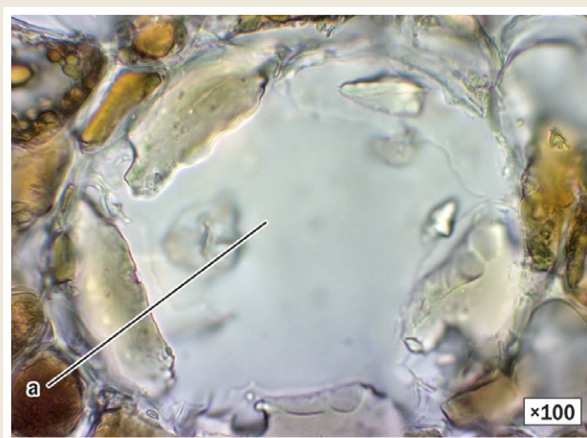
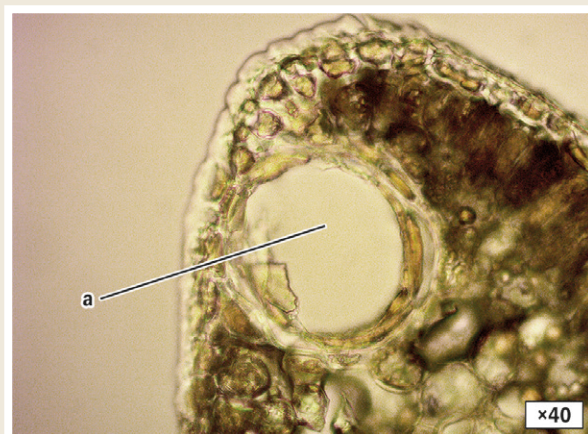


Fig. 12. Transverse section of a leaf showing the schizolisogenic receptacle and epithelial cells on the abaxial surface near the leaf margin. a: schizolisogenic receptacle.

These trichomes are simple hairs characterized by smooth, thick walls, and are unicellular, solitary, conical, and slightly undulated.

Common myrtle leaves additionally contain significant quantities of druses (Fig. 9, b) and prismatic crystals of calcium oxalate (Fig. 9, a).

In the leaf mesophyll, there are also spherical secretory receptacles (Fig. 10, a), which exhibit the typical schizoli-

sogenic structure. Histochemical tests with Sudan III indicate that the secretory receptacles of *Myrtus communis* mainly produce lipophilic compounds. The epithelial cells situated above the receptacles (Fig. 10, e) are larger in size, rounded, with less tortuous walls compared to other cells of the epidermis.

In addition to the containers of essential oil, dark brown idioblasts containing resinous-oil content are also present (Fig. 11, a). These structures are distributed differently

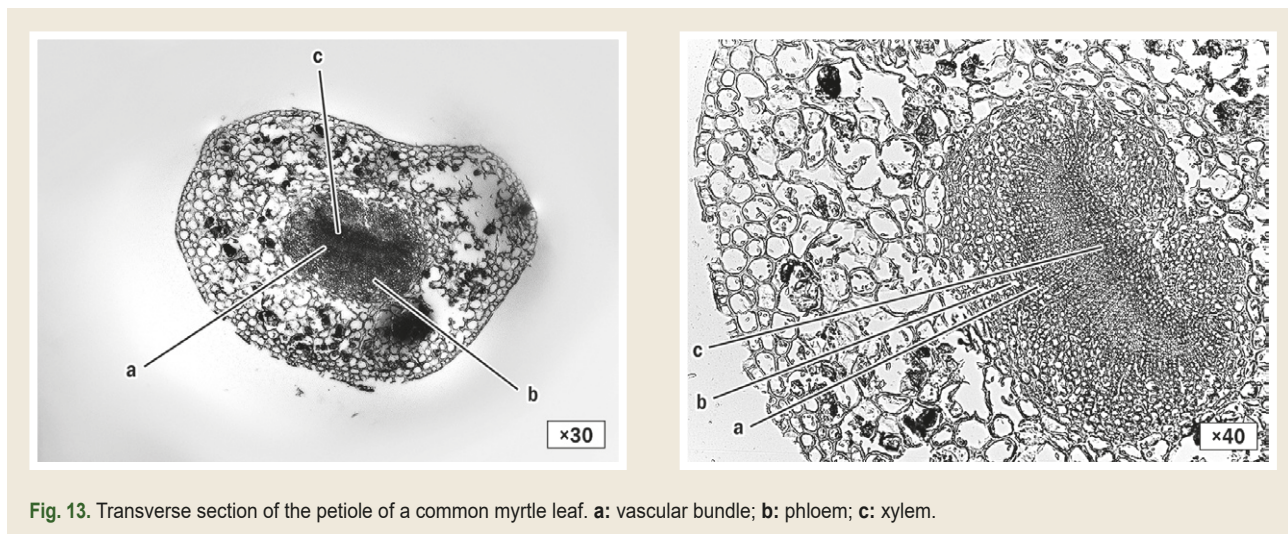


Fig. 13. Transverse section of the petiole of a common myrtle leaf. a: vascular bundle; b: phloem; c: xylem.

throughout the leaf: in the columnar parenchyma, where they are situated directly beneath the adaxial epidermis (Fig. 12, a); and in the spongy parenchyma, particularly in the transitional region with the columnar mesophyll or adjacent to the abaxial epidermis. The cavities typically appeared empty, although at times there was an accumulation of colorless or pale yellow material. This material consisted of small densely packed droplets or large clusters that filled the entire volume of the cavity.

The petiole of the leaf exhibits a heart-shaped cross-section (Fig. 13). Its surface is adorned with trichomes, and the conducting collateral bundle is enclosed (Fig. 13, a). The phloem (Fig. 13, b) lies adjacent to the xylem (Fig. 13, c) on the lower side, with distinct separation between the adaxial and abaxial phloem. Well-developed curved edges characterize the phloem, while a pronounced sclerenchymal lining of the bundle consists of small cells with lignified cell walls. Colenchyma areas are present in both the upper and lower parts of the bundle, with cells possessing non-lignified, irregularly thickened cell walls.

Discussion

For further research and the introduction of promising phytopreparations based on *Myrtus communis* L. into medical practice, reliable identification signs are necessary for medicinal plant raw materials. To fulfill this purpose, a microscopic study of *Myrtus communis* L. leaves was conducted, establishing characteristic anatomical and diagnostic features of the studied samples. The results of this study reveal that *Myrtus communis* L. shares several anatomical features with other species of the family, including the presence of druses and calcium oxalate crystals, internal phloem, and secretory cavities.

Calcium oxalate crystals are abundant in the leaves of *Myrtus communis* L., particularly in the palisade parenchyma located just below the adaxial epidermis. The precise function of these structures is not fully understood but is believed to be associated with the regulation of calcium and other minerals, as well as serving a defensive role against herbivores and pathogens.

The presence of internal phloem was observed in the midvein as a continuous tissue. Typical features for identifying representatives of the *Myrtaceae* family include the development of adaxial phloem, fusion between adaxial and abaxial phloem, and the continuity of fibers around the midvein [22].

The ontogeny of secretory cavities in *M. communis* L. follows the typical schizogenous pattern commonly observed in *Myrtaceae*. This development combines lysogenic (due to cell breakdown) and schizogenic processes [23,24].

Conclusions

1. During the research, the characteristic features of the appearance of whole common myrtle leaves were determined, including their shape, size, color, and smell. Microscopic studies of plant material identified the diagnostic features of the anatomical structure of the leaves of *Myrtus communis* L. These features include the dorsoventral structure of the leaf plate, the presence of the anomocytic type of stomatal apparatus with a hypostomatic location, simple hairs, the presence of druses and prismatic calcium oxalate crystals, and schizogenous secretory receptacles that produce lipophilic substances.

2. The identified diagnostic signs can be recommended for the identification of *Myrtus communis* L. plants and for establishing parameters for the standardization of medicinal plant raw materials.

Prospects for further research include studying the dynamics of the accumulation of biologically active substances in common myrtle leaves, as they serve as a source of medicinal plant raw materials for the development of new phytopreparations.

Funding

The work was carried out within the framework of the National Development Program of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University: "The searching and researching new sources of medicinal plant raw materials, and creating the substances and medicines that based from them", state registration No. 0120U102600 (2020–2025).

Gratitude

The team of authors thanks the rector of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Yurii Kolesnyk, for the opportunity to conduct experiments.

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about the 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](https://orcid.org/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](https://orcid.org/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

- Dabbaghi MM, Fadaei MS, Soleimani Roudi H, Baradaran Rahimi V, Askari VR. A review of the biological effects of *Myrtus communis*. *Physiol Rep*. 2023;11(14):e15770. doi: [10.14814/phy2.15770](https://doi.org/10.14814/phy2.15770)
- 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 (Basel)*. 2022;11(22):3156. doi: [10.3390/plants11223156](https://doi.org/10.3390/plants11223156)
- Usai M, Marchetti M, Culeddu N, Mulas M. Chemotaxonomic Evaluation by Volatolomics Analysis of Fifty-Two Genotypes of *Myrtus communis* L. *Plants (Basel)*. 2020;9(10):1288. doi: [10.3390/plants9101288](https://doi.org/10.3390/plants9101288)
- Mechchate H, de Castro Alves CE, Es-Safi I, Amaghnoouje 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)
- 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)
- Hennia A, Miguel MG, Nemmiche 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)
- 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: [10.1177/2156587217718958](https://doi.org/10.1177/2156587217718958)
- Kuru Yaşar R, Kuru D, Şen A, Şener G, Ercan F, Ya 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)
- 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 (Basel)*. 2023;12(6):1293. doi: [10.3390/plants12061293](https://doi.org/10.3390/plants12061293)
- Dib K, Cherrah Y, Rida S, Filali-Maltouf A, Ennibi 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)
- Caputo L, Capozzolo F, Amato G, De Feo V, Fratianni F, Vivenzio G, et al. Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complement Med Ther*. 2022;22(1):142. doi: [10.1186/s12906-022-03583-4](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03583-4)
- 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)
- Kutlu Z, Gulaboglu M, Halıcı Z, Cinar İ, Diyarbakır B. Biochemical Research of the Effects of Essential Oil Obtained from the Fruit of *Myrtus communis* L. on Cell Damage Associated with Lipopolysaccharide-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)
- 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 (Basel)*. 2020;9(3):57. doi: [10.3390/biology9030057](https://doi.org/10.3390/biology9030057)
- 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)
- 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)
- 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). PMID: 35268666; PMCID: PMC8911731.
- 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)
- Kovalov VM, Marchyshyn SM, editors. *Praktykum z identyfikatsii likar-skoj roslynnoi syrovyny* [Workshop on the identification of medicinal plant raw materials]. Ternopil, UA: Ukrmedknyga; 2014. Ukrainian.
- Lisovska TP, Kuzmishyna II, Kotsun LO. *Tsytohenetychni osnovy rozvytku orhanizmiv* [Cytogenetic bases of the development of organisms]. Lutsk, UA: Druk PP Ivaniuk VP; 2015. Ukrainian.
- Odyntsova A. [Method for drafting a morpho-anatomical description of the fruit using light microscopy]. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*. 2023;(89):3-19. Ukrainian. doi: [10.30970/vlubs.2023.89.01](https://doi.org/10.30970/vlubs.2023.89.01)
- Retamales HA, Scherson R, Scharaschkin T. Foliar micromorphology and anatomy of *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae), with particular reference to schizogenous secretory cavities. *Rev Chil de Hist Nat*. 2014;87:27. doi: [10.1186/s40693-014-0027-x](https://doi.org/10.1186/s40693-014-0027-x)
- Kordali S, Usanmaz A, Cakir A, Komaki A, Ercisli S. Antifungal and Herbicidal Effects of Fruit Essential Oils of Four *Myrtus communis* Genotypes. *Chem Biodivers*. 2016 Jan;13(1):77-84. doi: [10.1002/cbdv.201500018](https://doi.org/10.1002/cbdv.201500018)
- Ciccarelli D, Andreucci AC, Pagni AM, Garbari F. Structure and development of the elaiosome in *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) seeds. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2005;200(4):326-31. doi: [10.1016/j.flora.2004.12.004](https://doi.org/10.1016/j.flora.2004.12.004)



Study of the ascorbic acid accumulation in *Thymus L.* genus species of Ukraine flora

O. V. Mazulin^{ID}*A,B,D,F, Ya. M. Steshenko^{ID}B,E, L. A. Fukleva^{ID}E,D, G. V. Mazulin^{ID}B,C

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 *Thymus L.* genus species are extremely widespread in temperate countries and number up to 200 main wild plants, of which up to 50 have been identified in the modern Ukraine flora. Extracts from the official species of the *Thymus L.* genus are part of effective herbal preparations with pronounced anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant activities. A promising direction of modern phytochemical research is the determination of the presence and accumulation of biologically active ascorbic acid in the herbs of widespread wild and cultivated species of the *Thymus L.* genus.

The aim of the work is to determine the presence and accumulation of biologically active L-ascorbic acid in the herbs of four widespread wild and cultivated species of the *Thymus L.* genus of Ukraine flora using thin layer chromatography (TLC) and spectrophotometry methods during vegetation season.

Materials and methods. The research used herbs of four widespread wild and cultivated species of the *Thymus L.* genus of Ukraine flora during the growing season (June – August 2023). The presence and quantitative content of ascorbic acid were determined by TLC on a “Biostep” CD 60 densitometer (Germany) and spectrophotometry on a “Lambda 365” device (USA).

Results. TLC and spectrophotometry methods were used to determine the presence and quantitative content of ascorbic acid in the herbs of four widespread *Thymus L.* genus species of Ukraine flora during the growing season. Accumulation of the compound was higher during flowering of cultivated species than wild plants. For the herbs *Thymus vulgaris L.* up to 39.10 ± 3.88 mg%; *Th. x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. “Silver Queen” up to 36.19 ± 3.59 mg%.

Conclusions. Considering the results obtained by TLC and spectrophotometry methods, it can be concluded that the determination of ascorbic acid presence and content in the *Thymus L.* species genus herbs is appropriate for obtaining cosmetology preparations with pronounced anti-inflammatory, antioxidant, and regenerating activity for normal and problem skin.

Keywords: *Thymus L.* genus species, herb, thin layer chromatography, spectrophotometry, anti-inflammatory, antioxidant, regenerating activity.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):131-136

Визначення накопичення аскорбінової кислоти у видах роду *Thymus L.* флори України

О. В. Мазулін, Я. М. Стешенко, Л. А. Фуклева, Г. В. Мазулін

Види роду Чебрець (*Thymus L.*) надзвичайно поширені у країнах світу з помірним кліматом. Розрізняють до 200 основних дикорослих видів, з котрих у сучасній флорі України ідентифіковано до 50. Екстракти з фармакопейних видів роду входять до складу ефективних косметологічних лікарських засобів із вираженою антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією для нормальної та проблемної шкіри. Перспективним напрямом сучасних фітохімічних досліджень є визначення наявності та накопичення аскорбінової кислоти у траві поширених дикорослих і культивованих видів роду *Thymus L.*

Мета роботи – за допомогою методів тонкошарової хроматографії (ТШХ) та спектрофотометрії визначити наявність і накопичення аскорбінової кислоти у траві чотирьох поширених дикорослих і культивованих видів роду *Thymus L.* флори України.

Матеріали і методи. Для досліджень використали траву чотирьох поширених дикорослих і культивованих видів роду *Thymus L.* флори України під час вегетаційного періоду (червень – серпень 2023 р.). Наявність і кількісний вміст аскорбінової кислоти визначали методом ТШХ на денситометрі «Biostep» CD 60 (Німеччина) та спектрофотометрії на приладі «Lambda 365» (США).

Результати. Методами ТШХ і спектрофотометрії встановлено наявність і кількісний вміст аскорбінової кислоти у траві чотирьох поширених видів роду *Thymus L.* флори України під час вегетації. Виявили, що накопичення сполуки найбільше під час цвітіння

ARTICLE INFO



UDC 615.322:582.929.4-119.2:549.445.2(477)

DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.300569

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):131-136

Keywords: *Thymus L.* genus species, herb, thin layer chromatography, spectrophotometry, anti-inflammatory, antioxidant, regenerating activity.

*E-mail: mavgnosy@ukr.net

Received: 21.03.2024 // Revised: 02.05.2024 // Accepted: 13.05.2024

культивованих видів, ніж дикорослих. Для трави *Th. vulgaris* L. – до $39,10 \pm 3,88$ мг%; трави *Th. x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. «Silver Queen» – до $36,19 \pm 3,59$ мг%.

Висновки. Враховуючи дані ТШХ і спектрофотометрії, зробили висновок, що визначення вмісту аскорбінової кислоти у траві видів роду *Thymus* L. доцільне для отримання косметологічних лікарських засобів із вираженою протизапальною, антиоксидантною та регенеруючою активністю для нормальної та проблемної шкіри.

Ключові слова: види роду чебрець, трава, тонкошарова хроматографія, спектрофотометрія, протизапальна, антиоксидантна, регенеруюча активність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 131-136

In modern medical cosmetology, significant attention is given to the use of products derived from medicinal plants, known for their pronounced antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant activities. The World Health Organization forecasts that in the coming years, up to 60 % of modern drugs in European Union countries will be sourced from natural raw materials.

Modern medical cosmetology recognizes the tonic and antioxidant effects of products obtained from medicinal plant raw materials. These products, which contain natural vitamins, are essential for correcting disorders of collagen formation in normal, problem, and aging skin [1].

The well-known compound water-soluble ascorbic acid (vitamin C), common in plants, participates in many redox reactions in the body. It inhibits the peroxidation processes of lipids, proteins, and other cell components, protecting them from damage.

Ascorbic acid has an antioxidant effect; when applied to the skin, it ensures the functioning of enzyme systems that synthesize collagen protein, normalizes the condition of endothelial cells of blood vessels and tissues, reduces the negative effects of aging and photoaging, and neutralizes the influence of free radicals [2].

Until now, there have been no studies on the presence and quantitative content of the biologically active form of L-ascorbic acid in herbal raw materials with pronounced anti-inflammatory, antioxidant, and regenerating activity [3].

According to its chemical structure, L-ascorbic acid ($C_6H_8O_6$) is a natural compound derivative of L-acid (γ -lactone of 2,3-dehydro-L-gulonic acid).

In modern medical cosmetology, especially for microbial and inflammatory skin diseases, significant attention is paid to plant-origin products with *Thymus* L. genus species extracts. The extremely polymorphic *Thymus* L. genus is part of the *Lamiaceae* family and includes up to 200 main wild plant species distributed in Europe, Asia, and Africa, primarily in temperate climates. According to external morphological features, these are mainly shrubs or semi-shrubs [3,4].

Up to 50 of the most widespread species of this genus are known in the modern flora of Ukraine [5,6,7,8,9,10,11].

The best known in modern cosmetology are *Thymus vulgaris* L., *Th. zygis* L. (*Th. zygis* L. var. *gracilis* Bois.; *Th. zygis* L. var. *floribundus* Bois., *Th. serpyllum* L., *Th. x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. “Silver Queen” [12,13,14].

The accumulation of essential and fatty oils, flavonoids, hydroxycinnamic acids, polysaccharides, tannins, triterpenoid saponins, organic and amino acids, inorganic elements has been established in the *Thymus* L. genus species [15,16,17].

The essential oils and extracts from herbal raw materials of *Thymus* L. genus species for external use are prescribed in ointments and gels for treating microbial and inflammatory diseases of normal, problem, and aging skin [18,19,20].

When applied to the skin in medical cosmetics, *Thymus* L. genus species extracts show pronounced anti-inflammatory and regenerating activity. Notably, these extracts do not cause side effects such as irritation and toxicity [21].

At the same time, it was established that the pronounced normalizing and restoring collagen synthesis action of these drugs is largely due to the presence of vitamins, primarily ascorbic acid [22,23,24].

However, until now, studies of the presence and accumulation of ascorbic acid during the growing season in herbal raw materials of *Thymus* L. genus species have not been conducted. Scientific publications on this line of research are very limited.

The sufficient prevalence of cultivated and wild *Thymus* L. genus species in the Ukrainian flora, along with the pronounced regenerating and antioxidant activity of medicinal drugs derived from these plants, makes it reasonable to determine the presence and accumulation of ascorbic acid during the vegetation period in the herbal raw materials.

Aim

The aim of this work is to determine the presence and accumulation of biologically active L-ascorbic acid in the herbs of four widespread wild and cultivated species of the *Thymus* L. genus of Ukraine flora using TLC and spectrophotometry methods during vegetation season.

Materials and methods

The research used herbs of four widespread wild and cultivated species of the *Thymus* L. genus of Ukraine flora from different places of growth during the vegetation season (June – August 2023). The harvesting of herbal raw materials was carried out during the vegetation season in various regions of Ukraine (Zaporizhzhia, Kharkiv, Poltava, Dnipropetrovsk regions) to the article of the State Pharmacopoeia of Ukraine. The herbal raw materials were flowering upper shoots with inflorescences up to 15 cm long, individual leaves, and parts of twigs (no more than 2 %) [25].

The process of drying was carried out for 24 hours in the drying device “Termolab SNOL 24/350” at a temperature of 35 °C, a layer thickness of 1 cm, to the last moisture in the composition no more than 10 %.

The identify and quantitative content of ascorbic acid in herbal raw materials were determined by TLC method on plates with a glass base of the brand “Merkieselguhr F₂₅₄” 20 × 20 (Merck KGaA, Germany) in the systems acetone-glacial acetic acid-methanol-toluene (5:5:20:70) and n-butanol-formic acid-water (30:5:10) on the “Biostep” CD 60 densitometer device (Germany) and spectrophotometry on the “Lambda 365” device (USA).

Methodology: about 5.0 g (exact weight) of herbal raw material were crushed to a particle diameter ($d = 2$ mm), placed in a flask with a capacity of 100 ml, 25 ml of 96 % ethanol was added, shaken for 30 min. and filtered through a membrane filter ($d = 0.45$ μm).

Comparison solution: 10 mg of ascorbic acid Merck standard (Supelco 47863) in 5.0 ml of 60 % ethanol was dissolved.

The 20 μl of tested solution and 2 μl of comparison solution to the starting line of the chromatographic plate were applied.

The moving phase must pass a distance of 15 cm from the starting line. Drying is carried out in the air. Detection of the presence of ascorbic acid is carried out in UV light at a wavelength of 254 nm.

The chromatogram of the tested solution shows an absorption zone at the level of the main zone of the standard sample. They are sprayed with a solution of 0.2 g/l dichlorophenolindophenol sodium in 96 % ethanol and viewed in daylight.

The chromatogram of the tested solution reveals a white zone on a pink background (ascorbic acid) at the level of the main zone on the comparison.

Simultaneous chromatographic determination of the presence of ascorbic acid was carried out with a standard sample of the Merck standard compound (Supelco 47863) on plates in selected chromatographic systems on a “Biostep” CD 60 device (Germany).

Method of quantitative determination: about 5.0 g (exact weight) of plant material was crushed to a particle diameter ($d = 2$ mm), introduced into a round-bottom flask with a capacity of 100 ml, a solution of 1.0 g of oxalic acid in 50.0 ml of methanol was added, boiled refluxed for 10 min., cooled in an ice bath to a temperature of 15–20 °C and filtered through a membrane filter ($d = 0.45$ μm).

The 2.0 ml of the filtrate were transferred to a 50 ml conical flask, 2.0 ml of the dichlorophenolindophenol sodium standard solution successively were added, shaking gently after each addition, then, after exactly 60 s, 0.5 ml of a solution of 100 g/l thiourea in ethanol (50 %) and 0.7 ml of dinitrophenylhydrazine-sulfuric acid solution, was heated under reflux at a temperature of 50 °C for 75 min and immediately placed in an ice bath for 5 min.

Drops of 5.0 ml of a mixture of 12 ml of purified water and 50 ml of sulfuric acid, added for a period of not less than 90 s and not more than 120 s, vigorously shaking the flask in an ice bath.

The solution was kept for 30 minutes. at room temperature and measured the optical density at a wavelength of 520 nm using solution A as a compensating solution.

Solution A. 2.0 ml of the filtrate obtained during the preparation of the test solution is processed according to the

method, adding dinitrophenylhydrazine-sulfuric acid solution immediately before measuring the optical density.

Solution for comparison. 40.0 mg of L-ascorbic acid standard is dissolved in a freshly prepared solution of 20 g/l oxalic acid in methanol, the volume of the solution is brought to 100.0 ml with the same solvent.

The 5.0 ml of the obtained solution was brought up to 100.0 ml with a freshly prepared solution of 20 g/l oxalic acid in methanol.

The 2.0 ml of the resulting solutions were processed according to the method. The optical density is measured at a wavelength of 520 nm using solution B as a compensating solution.

Solution B. The 2.0 ml of the comparison solution was processed similarly to solution A.

The optical density of the obtained stabilized complex of ascorbic acid with a standard solution of dichlorophenolindophenol sodium was determined at room temperature at a wavelength of 520 nm, relative to the compensation solution [26].

The obtained results were processed by the mathematical statistics under the license program Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J).

The reliability of the obtained differences in values according to the State Pharmacopoeia of Ukraine (version 1) was assessed by the Student’s t-test ($p > 95$ %) [27].

Results

By TLC and spectrophotometry methods the presence and quantitative content of L-ascorbic acid in the herbal raw materials of four widespread *Thymus* L. genus species of the Ukraine flora from different places of growth during the vegetation season (June – August 2023) were used.

The obtained research results are shown in *Table 1* and *Fig. 1*.

The accumulation of L-ascorbic acid was identified and determined by the TLC and spectrophotometry methods during the vegetation season in the herbal raw materials of four widespread *Thymus* L. genus species.

It was established that the highest presence of the compound was inherent during the flowering season of the species, from 20.20 ± 2.00 mg% in the herbal raw material of *Thymus serpyllum* L. to 39.10 ± 3.88 mg% in *Th. vulgaris* L.

The smallest accumulation of the compound is characteristic of the fruiting season of the species, from 9.14 ± 0.89 mg% in the herbal raw material of *Thymus serpyllum* L. to 15.49 ± 1.51 mg% in *Th. vulgaris* L.

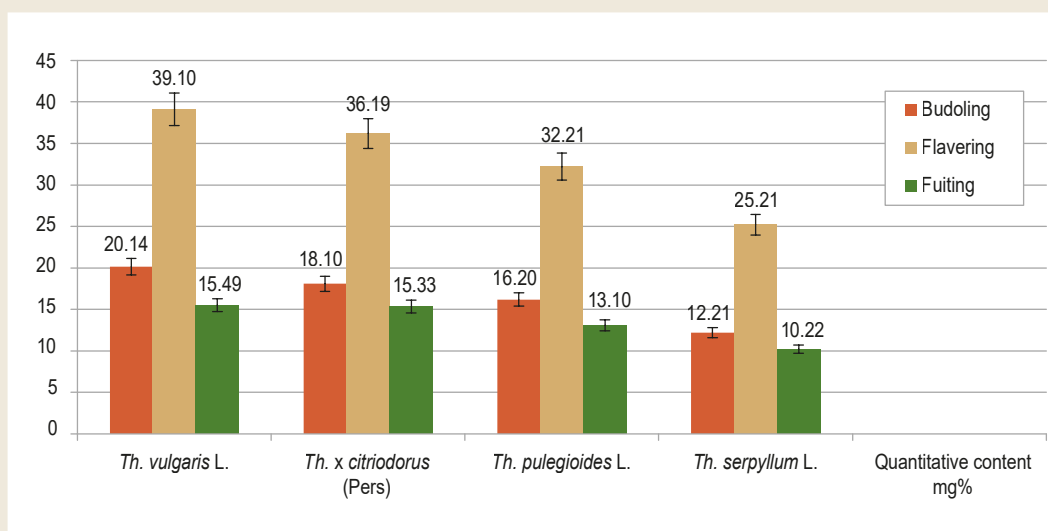
During the budding season, the content of L-ascorbic acid relatively small and were ranged from 10.13 ± 1.04 mg% in herbal raw material of *Thymus serpyllum* L. to 18.10 ± 1.79 mg% y *Th. vulgaris* L.

For cultivated species of the *Thymus* genus L., the accumulation of this compound was at a higher level than in the wild.

For the herb *Thymus vulgaris* L. from different places of growth quantitative content ranged from 37.22 ± 3.70 mg% to 39.10 ± 3.88 mg%; for *Th. x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. “Silver Queen” from 34.21 ± 3.39 mg% to 36.19 ± 3.59 mg%.

Table 1. The results of determining the quantitative content of L-ascorbic acid in the herbal raw materials of *Thymus* L. genus species (June – August 2023), mg%, $\mu = 6$

Species name	Place of collection	Quantitative content ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), mg%		
		Budding	Flowering	Fruiting
<i>Th. serpyllum</i> L.	Vilniansk, Zaporizhzhia reg.	10.11 \pm 1.11	23.22 \pm 2.20	9.14 \pm 0.89
<i>Th. serpyllum</i> L.	Lozova, Kharkiv reg.	12.21 \pm 1.22	25.21 \pm 2.49	10.22 \pm 1.07
<i>Th. serpyllum</i> L.	Berezotocha, Poltava reg.	10.13 \pm 1.04	20.20 \pm 2.00	9.17 \pm 0.89
<i>Th. vulgaris</i> L.	Beryslav, Kherson reg.	20.14 \pm 2.12	39.10 \pm 3.88	15.49 \pm 1.51
<i>Th. vulgaris</i> L.	Pavlohrad, Dnipropetrovsk reg.	19.10 \pm 1.90	38.19 \pm 3.79	16.11 \pm 1.59
<i>Th. vulgaris</i> L.	Pidstepne, Kherson reg.	19.14 \pm 1.89	37.22 \pm 3.70	17.20 \pm 1.68
<i>Th. pulegioides</i> L.	Baburka, Zaporizhzhia reg.	16.20 \pm 1.65	32.21 \pm 3.20	13.10 \pm 1.33
<i>Th. pulegioides</i> L.	Solone, Dnipropetrovsk reg.	16.10 \pm 1.63	32.20 \pm 3.19	12.25 \pm 1.22
<i>Th. pulegioides</i> L.	Orikhiv, Zaporizhzhia reg.	16.13 \pm 1.59	32.10 \pm 3.22	12.10 \pm 1.20
<i>Th. x citriodorus</i> (Pers.) Schreb. var. "Silver Queen"	Volodymyrivka, Zaporizhzhia reg.	18.10 \pm 1.79	36.19 \pm 3.59	15.33 \pm 1.50
<i>Th. x citriodorus</i> (Pers.) Schreb. var. "Silver Queen"	Dniprelstan, Dnipropetrovsk reg.	17.11 \pm 1.69	35.22 \pm 3.46	16.14 \pm 1.59
<i>Th. x citriodorus</i> (Pers.) Schreb. var. Silver Queen"	Synelnikove, Dnipropetrovsk reg.	17.23 \pm 1.71	34.21 \pm 3.39	15.28 \pm 1.50

**Fig. 1.** The maximum accumulation of L-ascorbic acid in the herbal raw materials of *Thymus* L. genus species during the vegetation season (June – August 2023), ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$) mg%, $\mu = 6$.

Discussion

It was established that the accumulation of L-ascorbic acid during the growing season in the herbal raw materials of four studied widespread wild and cultivated species of the *Thymus* L. genus ranges from 9.14 \pm 0.89 mg% to 39.10 \pm 3.88 mg%.

The compound is an important factor that determines the passage of all stages of plant ontogenesis. Its maximum accumulation was characteristic during the flowering season for cultivated species of the *Thymus* L. genus.

In the herbal raw materials of *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. "Silver Queen" from 15.28 \pm 1.50 mg% to 36.19 \pm 3.59 mg%; *Th. vulgaris* L. from 15.49 \pm 1.51 mg% to 39.10 \pm 3.88 mg%.

The transition of ascorbic acid to the composition of extracts from species of the genus *Thymus* L. contributes to the increase of collagen biosynthesis, anti-inflammatory and antioxidant activity of drugs during dermal application.

Conclusions

1. The accumulation of L-ascorbic acid, which contributes to the increase of collagen biosynthesis, anti-inflammatory and antioxidant effects, was identified and determined by TLC and spectrophotometry methods during the vegetation season in the herbal raw materials of four widespread *Thymus* L. genus species.

2. The highest accumulation of L-ascorbic acid during the vegetation season is characteristic of the herbal raw materials of the studied species during flowering.

3. Taking into account the sufficient raw material base of the researched promising species of the *Thymus* L. genus, it should be considered appropriate to cultivate them in the conditions of Ukraine to obtain effective complex medicinal drugs for dermal application.

Prospects for further research. The methods of identification and quantitative analysis of L-ascorbic acid can be used for further research on *Thymus* L. genus species as well as for inclusion in the draft monographies for the standardization of these species.

Funding

The research was carried out on the topic of the complex scientific work of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University on the topic: "Research of technological, pharmacological, pharmacognostic, socio-economic and pharmacotherapeutic aspects of the creation and use of medicinal products with active pharmaceutical ingredients based on natural and synthetic raw materials of various pharmacological groups and the development of measures to increase the level of pharmaceutical care in the context of the transformation of the Ukrainian health care and pharmaceutical system education", state registration No. 0124U001379 (2024–2028).

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

Information about the authors:

Mazulin O. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-0628-4457

Steshenko Ya. M., Postgraduate Student of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-7538-6740

Fukleva L. A., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmacy Management and Economics, and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-2930-0619

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

ORCID ID: 0000-0002-4227-7388

Відомості про авторів:

Мазулін О. В., д-р фарм. наук, професор каф. клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Стешенко Я. М., очний аспірант каф. клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Фуклева Л. А., канд. фарм. наук, старший викладач каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

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

References

- Boo YC. Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: Emerging Combination Therapies. *Antioxidants* (Basel). 2022;11(9):1663. doi: [10.3390/antiox11091663](https://doi.org/10.3390/antiox11091663)
- Wang K, Jiang H, Li W, Qiang M, Dong T, Li H. Role of Vitamin C in Skin Diseases. *Front Physiol*. 2018;9:819. doi: [10.3389/fphys.2018.00819](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00819)
- Janecka A. [Properties, forms and biological effects of vitamin C in skin therapies]. *Aesth Cosmetol Med*. 2023;12(1):17-22. Available from: [10.52336/acm.2022.032](https://doi.org/10.52336/acm.2022.032)
- Zhang Y. Discovery and determination of ascorbic acid. In: *Ascorbic Acid in Plants*. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 1-6. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-4127-4_1
- Nachychko VO, Honcharenko VI. [Botanical-geographical characterization of *Thymus* L. (Lamiaceae) species in the flora of western regions of Ukraine]. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*. 2017;75:35-47. Ukrainian. doi: [10.30970/vlubs.2017.75.04](https://doi.org/10.30970/vlubs.2017.75.04)
- Afonso AF, Pereira OR, Válega M, Silva AMS, Cardoso SM. Metabolites and Biological Activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides*, and *Thymus fragrantissimus* Grown under Organic Cultivation. *Molecules*. 2018;23(7):1514. doi: [10.3390/molecules23071514](https://doi.org/10.3390/molecules23071514)
- Dauqan EM, Abdullah A. Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. *J. App. Biol. Biotechnol*. 2017;5(2):17-22. doi: [10.7324/jabb.2017.50203](https://doi.org/10.7324/jabb.2017.50203)
- Niculae M, Hanganu D, Oniga I, Benedec D, Ielciu I, Giupana R, et al. Phytochemical Profile and Antimicrobial Potential of Extracts Obtained from *Thymus marschallianus* Willd. *Molecules*. 2019;24(17):3101. doi: [10.3390/molecules24173101](https://doi.org/10.3390/molecules24173101)
- Mazulin OV, Fukleva LA, Mazulin GV. Study the polyphenolic compounds composition of *Thymus vulgaris* L. herb. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023;16(1):23-7. doi: [10.14739/2409-2932.2023.1.265524](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.265524)
- Bączek K, Pióro-Jabrucka E, Kosakowska O, Węglarz Z. Intraspecific variability of wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) occurring in Poland. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2018;12:30-5. doi: [10.1016/j.jar-map.2018.11.001](https://doi.org/10.1016/j.jar-map.2018.11.001)
- Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. Suppl. 3. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2009. Ukrainian.
- Toncer O, Karaman S, Diraz E, Sogut T, Kizil S. Essential oil composition of *Thymus × citriodorus* (Pers.) Schreb. At different harvest stages. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*. 2017;45(1):185-9. doi: [10.15835/nbha45110672](https://doi.org/10.15835/nbha45110672)
- Aouam I, Elatki Y, Taroq A, Elkamari F, Elyoussi B, Abdellaoui A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential oil of *Thymus citriodorus* L. Growing Wild in Morocco: Preventive Approach against Nosocomial Infections. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2018;51(1):72-75.
- Beicu R, Alexa E, Obiștioiu D, Cocan I, Imbrea F, Pop G, et al. Antimicrobial Potential and Phytochemical Profile of Wild and Cultivated Populations of Thyme (*Thymus* sp.) Growing in Western Romania. *Plants* (Basel). 2021;10(9):1833. doi: [10.3390/plants10091833](https://doi.org/10.3390/plants10091833)
- Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chem*. 2017;220:153-61. doi: [10.1016/j.foodchem.2016.09.203](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.203)
- Zarivna NO. [Development of monosaccharides identification methods in thyme creeping extracts]. *Medical and clinical chemistry*. 2021;23(1):80-3. Ukrainian. doi: [10.11603/mcch.2410-681x.2021.i1.12112](https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2021.i1.12112)
- Zarivna NO, Logoyda LS. [Development of flavonoid and hydroxycinnamic acid identification methods in thyme creeping extracts]. *Medical and clinical chemistry*. 2020;(1):107-11. Ukrainian. doi: [10.11603/mcch.2410-681x.2020.v.i1.11061](https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2020.v.i1.11061)
- Wisam SU, Nahla TK, Tariq NM. Antioxidant Activities of Thyme Extracts. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2018;17(1):46-50. doi: [10.3923/pjn.2018.46.50](https://doi.org/10.3923/pjn.2018.46.50)
- Larionov VB, Tsisak AO, Bieniet SS. Polyphenolic status and antioxidant activity of the herb *Thymus serpyllum* L. *Odesa National University Herald. Chemistry*. 2023;28(1):75-84. Ukrainian. doi: [10.18524/2304-0947.2023.1\(84\).277069](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2023.1(84).277069)
- Pruteanu A, Popescu C, Vladut V, Gageanu G. Biochemical analysis of some vegetal extracts obtained from indigenous spontaneous species of (*Thymus serpyllum* L.). *Rom. Biotechnol. Lett*. 2018;23(5):14013-24. doi: [10.26327/RBL2018.179](https://doi.org/10.26327/RBL2018.179)

21. Harna SV, Vladymyrova IM, Burd NB, Heorhiants VA, Kotov AH, et al. Suchasna fitoterapiia [Modern phytotherapy]. Kharkiv: Drukarnia Madryd ; 2016. Ukrainian.
22. Mazandarani M, Grafourian M. Influence of extraction methods on total phenolic, flavonoids and antioxidant activity of *Thymus kotchyanus* L. extract in Semnan Province, Iran. *Trends in Phytochemical Research*. 2017;1(1):33-8.
23. Madouni N, Meddah B, Aicha TT, Bensouici C, Cakmak YS, Piras A, et al. Chemical profile, antioxidant and photoprotective activities of essential oil and crude extracts of Algerian *Thymus serpyllum*. *Nova Biotechnol Chim*. 2021;20(2):e916. doi: [10.36547/nbc.916](https://doi.org/10.36547/nbc.916)
24. Mahboubi M, Heidarytabar R, Mahdizadeh E, Hosseini H. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus* species and *Zataria multiflora* essential oils. *Agric Nat Resour*. 2017;51(5):395-401. doi: [10.1016/j.anres.2018.02.001](https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.02.001)
25. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. Suppl. 2. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2008. Ukrainian.
26. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Vol. 3. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2014. Ukrainian.
27. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Vol. 1. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2015. Ukrainian.



Comparative studies of essential oils from *Matricaria recutita* L.

O. I. Panasenko^{ID}A,E,F, V. M. Odyntsova^{ID}*A,E,F, O. M. Denysenko^{ID}A,E,F, V. I. Mozul^{ID}B,E,F, V. V. Holovkin^{ID}B,C,E

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

The aim of the work is to determine the component composition of the essential oil of medicinal chamomile, grown on the educational and research site of medicinal plants of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (ZSMPHU), and commercial essential oil that was purchased via the Internet.

Materials and methods. The object of the study was chamomile essential oil obtained by hydrodistillation and commercial oil. Qualitative and quantitative determination of the components of essential oils was established using the chromatography-mass spectrometry method on a high-performance gas chromatograph "Agilent 7890B GC System" (Agilent, Santa Clara, CA, USA) with a mass spectrometry detector "Agilent 5977 BGC/MSD" (Agilent, Santa Clara, CA, USA).

Results. Dominant compounds of essential oil of chamomile, grown on the educational and research site of medicinal plants ZSMPHU were 2*H*-pyran-3-ol, tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl) – 7.54 %, chamazulene – 5.32 %, alpha-bisabolol – 4.30 %, 1*H*-cycloprop[*e*]azulen-7-ol, decahydro-3,1,7-trimethyl-4-methylene – 3.25 %, myrtenyl acetate – 3.03 %, azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl) – 2.16 %, bisabolol oxide B – 1.86 %. Commercial chamomile essential oil was dominated by 3-methoxy-3-methylbutanol (56.15 %), diethyl phthalate (17.46 %), linalyl acetate (6.99 %), linalool (4.41 %).

Conclusions. Industrial cultivation of chamomile in southern Ukraine shows a high biologically active substances content and can be in demand in the pharmaceutical industry's consumer market for raw materials.

Keywords: *Matricaria recutita* L., essential oil, chromatography-mass spectrometry.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):137-143

Порівняльні дослідження ефірних олій *Matricaria recutita* L.

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

Мета роботи – встановлення компонентного складу ефірної олії ромашки лікарської, вирощеної на навчально-дослідній ділянці Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (ЗДМФУ), та комерційної ефірної олії, яка придбана через мережу Інтернет.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження – ефірна олія ромашки, отримана методом гідродистиляції, та комерційна олія. Якісне та кількісне визначення компонентів ефірних олій здійснили з використанням хромато-мас-спектрометричного методу на високоефективному газовому хроматографі «Agilent 7890B GC System» (Agilent, Santa Clara, CA, USA) з мас-спектрометричним детектором «Agilent 5977 BGC/MSD» (Agilent, Santa Clara, CA, USA).

Результати. Сполуки, що домінували в ефірній олії ромашки, яка вирощена на навчально-дослідній ділянці лікарських рослин лікарських рослин ЗДМФУ: 2*H*-пуран-3-ол, tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl) – 7,54 %, chamazulene – 5,32 %, alpha-bisabolol – 4,30 %, 1*H*-циклопроп[*e*]азулен-7-ол, decahydro-3,1,7-trimethyl-4-methylene – 3,25 %, myrtenyl acetate – 3,03 %, azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl) – 2,16 %, bisabolol oxide B – 1,86 %. В комерційній ефірній олії ромашки лікарської переважали 3-methoxy-3-methylbutanol (56,15 %), diethyl phthalate (17,46 %), linalyl acetate (6,99 %), linalool (4,41 %).

Висновки. Промислове культивування ромашки лікарської в умовах півдня України сприяє високому вмісту біологічно активних речовин і може бути затребуваним для споживчого ринку сировини, що використовують у фармацевтичній промисловості.

Ключові слова: *Matricaria recutita* L., ефірна олія, хромато-мас-спектрометрія.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 137-143

ARTICLE INFO



UDC 615.322:582.998.16-035.85]:543.51
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.302752

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):137-143

Keywords: *Matricaria recutita* L., essential oil, chromatography-mass spectrometry.

*E-mail: odyntsova1505@gmail.com

Received: 22.04.2024 // Revised: 03.05.2024 // Accepted: 14.05.2024

Cultivation of medicinal plants contributes to the increase of the raw material base, the protection of rare and endangered species, and is a prerequisite for obtaining high-quality raw materials, primarily with a high content of pharmacologically active substances. The main task of selection is to breed species with a high yield of raw materials and an increased content of active substances, resistant to diseases and pests, and suitable for mechanized cultivation technology [1,2,3]. The qualitative composition and quantitative content of components may change due to the influence of various natural factors. Local geoclimate, seasonal changes, light, humidity, and soil type are the main parameters that affect the accumulation of biologically active substances in the plant. The cultivation of plants plays a major role in obtaining higher quality raw materials, which in turn contributes to the production of effective drugs, enabling appropriate therapy for patients [4].

The transition of domestic pharmaceutical production to international standards significantly increases the requirements for the cultivation and quality of medicinal raw materials [5]. The important factors affecting the content of active substances are environmental factors. They are the amount of precipitation and air humidity, soil composition, thermal and light energy [1,2].

Among the great variety of medicinal plants, a special place is occupied by the medicinal chamomile (*Matricaria recutita* L.) [6]. In its wild form, species similar in appearance are found next to it, which are unacceptable impurities [7,8].

Chamomile medicinal flower baskets (*Matricariae* flores) are widely utilized in medicine owing to their substantial content of essential oils, flavonoids, and other biologically active metabolites. These compounds exhibit a wide range of therapeutic properties, including anti-inflammatory, antiseptic, antispasmodic, antioxidant, emollient, choleric, astringent, antipyretic, soothing, and antimicrobial effects [9,10].

Chamomile flowers are key components of numerous preparations, with the majority being manufactured in Ukraine [11]. *Matricaria recutita* L. is classified as a priority medicinal plant, with its raw materials in high demand. These flowers are harvested from wild *Matricaria recutita* L. in their natural habitats and from cultivated sources across various regions of Ukraine.

The novelty of this study lies in several key aspects. First, it involves a comprehensive comparison of essential oils from various sources, considering diverse factors such as the growing conditions of the raw materials, the vegetation phase during harvesting, the processing methods, and the plants' geographical origin. Additionally, the study employs multiple analytical techniques to assess these variables. This multi-faceted approach provides valuable insights into the stability and quality of chamomile essential oils. Consequently, these findings contribute to the enhancement of scientific knowledge and the overall quality of essential oil production.

Aim

The purpose of the work is to determine the component composition of the essential oil of medicinal chamomile,

grown on the educational and research site of medicinal plants of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, and commercial essential oil that was purchased via the Internet.

Materials and methods

The object of the study was chamomile essential oil, obtained by the method of hydrodistillation, and commercial oil. The essential oil was obtained in the laboratory of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (ZSMPHU). Qualitative and quantitative determination of the components of essential oils was established using the chromat-mass spectrometric method in the laboratory of gas chromat-mass chromatometry of the Educational and Scientific Medical Laboratory Center with a vivarium.

The essential oil was obtained from dry medicinal plant material by the standard method of hydrodistillation (reference to the State Pharmacopoeia of Ukraine) [12].

The research was carried out using standard methods for determining chemical compounds on a high-performance gas chromatograph "Agilent 7890B GC System" (Agilent, SantaClara, CA, USA) with a mass spectrometric detector "Agilent 5977 BGC/MSD" (Agilent, SantaClara, CA, USA) [13,14]. Chromatographic column DB-5ms length 30 m × 250 μm × 0.25 μm. The speed of the carrier gas (helium) is 1.3 ml/min. Injection volume – 0.5 μl. Flow division – 1:5. The temperature of the sample input unit is 200 °C → 12°C/s → 265 °C. Thermostat temperature: programmable, 70 °C (1 min delay) → 10 °C/min → 270 °C (4 min delay). The temperature of the GC/MS interface is 275 °C; ion sources – 230 °C; of a quadrupole mass analyzer – 150 °C. Type of ionization: EI at an electron energy of 70 eV. 30–700 m/z. The NIST14 mass spectrum library was used to identify the components.

Results

The essential oil of medicinal chamomile, grown on the educational and research site of medicinal plants of ZSMPHU, was intensely blue, oily to the touch with a pleasant characteristic smell [15,16]. The commercial essential oil was yellow, oily to the touch with a faint odor.

According to the results of the chromatographic-mass-spectrometric study, 48 compounds were identified in the essential oil of chamomile, grown on the educational and research site of medicinal plants of ZSMPHU, taking into account agrotechnical methods (*Fig. 1, Table 1*) and 18 compounds in the essential oil purchased through the Internet (*Fig. 1, Table 2*).

Among substances of terpenoid nature, the dominant compounds of chamomile essential oil grown on the educational and research site of medicinal plants of ZSMPHU were 2*H*-pyran-3-ol, tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl) – 7.54 %, chamazulene – 5.32 %, alpha-bisabolol – 4.30 %, 1*H*-cycloprop[e]azulen-7-ol,

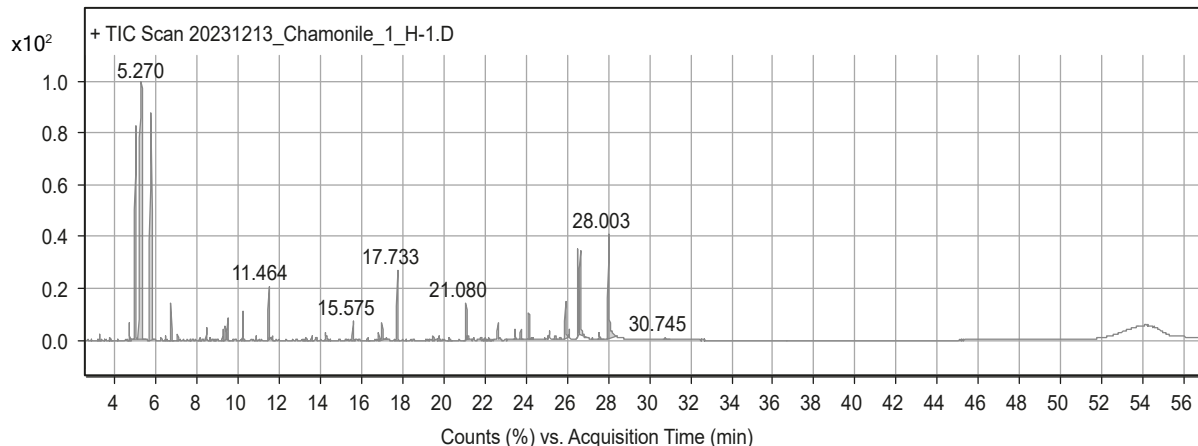


Fig. 1. Chromatogram of essential oil of chamomile, grown at the educational and research area of medicinal plants of ZSMPHU.

Table 1. Qualitative and quantitative content of chamomile essential oil of medicinal flowers grown at the educational and research site of medicinal plants of ZSMPHU

No.	RT	Compound name	Area Sum %
1	3.232	Toluene	0.19
2	3.745	Hexanal	0.10
3	4.695	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.64
5	5.27	3,5-Octadiyne	28.99
7	6.448	Benzene, (1-methylethyl)	0.16
8	6.717	3-Carene	1.12
9	7.034	Butanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	0.20
10	8.113	5-Hepten-2-one, 6-methyl	0.10
11	8.434	3,6-Heptadien-2-ol, 2,5,5-trimethyl	0.42
12	9.235	o-Cymene	0.36
13	9.368	D-Limonene	0.47
14	9.47	Eucalyptol	0.81
15	10.211	1,5-Heptadien-4-one, 3,3,6-trimethyl	1.11
16	10.863	1,5-Heptadien-4-ol, 3,3,6-trimethyl	0.14
17	11.464	Linalool	1.84
18	11.638	Bicyclo[3.1.0]hexan-3-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	0.13
19	13.299	4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)	0.09
20	13.561	endo-Borneol	0.14
21	13.793	Terpinen-4-ol	0.11
22	14.234	α -Terpineol	0.65
23	15.575	D-Carvone	0.76
24	16.277	4,8-Dimethylnona-3,8-dien-2-one	0.09

Count of Table 1.

No.	RT	Compound name	Area Sum %
25	16.823	Safrole	0.33
26	16.976	Thymol	0.82
27	17.199	Thymol	0.12
28	17.733	Myrtenyl acetate	3.03
29	19.477	Bicyclo[5.3.0]decane, 2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl	0.17
30	19.745	Methyleugenol	0.17
31	20.258	Caryophyllene	0.12
32	21.08	cis-beta-Farnesene	1.46
33	21.163	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl	0.16
34	21.796	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]decane	0.09
35	21.999	1,1,4a-Trimethyl-5,6-dimethylenedecahydronaphthalene	0.14
36	22.164	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)	2.16
37	23.45	Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)	0.44
38	23.739	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl	0.37
39	24.13	1 <i>H</i> -Cycloprop[<i>e</i>]jazulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene	3.25
40	24.247	Alloaromadendrene oxide-(1)	0.10
41	25.411	2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro,4a,8-tetramethyl	0.22
42	25.638	tau-Muurolol	0.10
43	25.911	Bisabolol oxide B	1.86
44	26.509	(<i>S</i>)-2,2,6-Trimethyl-6-((<i>S</i>)-4-methylcyclohex-3-en-1-yl)dihydro-2 <i>H</i> -pyran-3(4 <i>H</i>)-one	3.80
45	26.619	α -Bisabolol	4.30
46	27.556	Chamazulene	5.32
47	28.003	2 <i>H</i> -Pyran-3-ol, tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)	7.54
48	30.745	(<i>Z</i>)-2-(Hexa-2,4-diyn-1-ylidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]non-3-ene	0.24

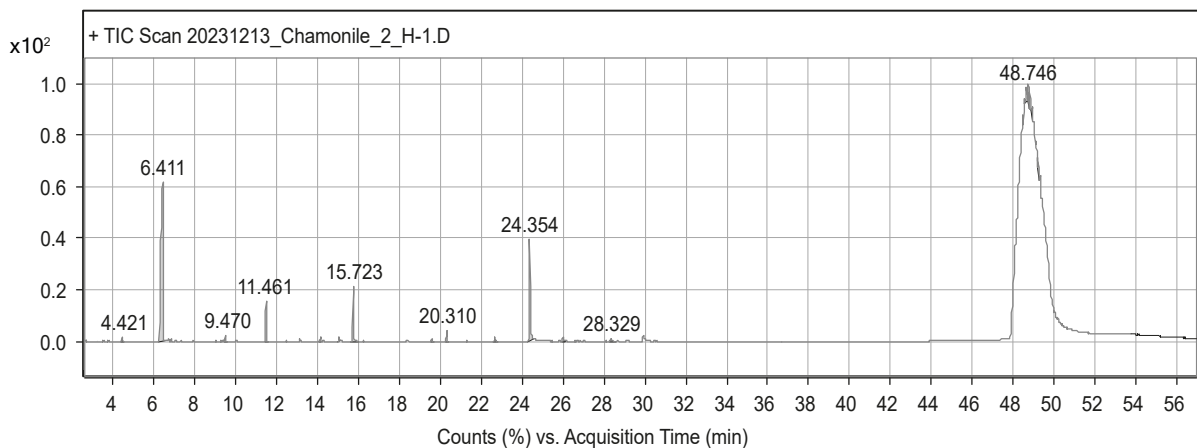


Fig. 2. Chromatogram of commercial chamomile medicinal flowers essential oil.

Table 2. Qualitative and quantitative content of commercial chamomile essential oil

No.	RT	Compound name	Area Sum %
1	4.421	Butanoic acid, 3-hydroxy-3-methyl	0.32
2	6.411	3-Methoxy-3-methylbutanol	56.15
3	9.47	Eucalyptol	0.59
4	11.461	Linalool	4.41
5	14.129	1,3-Dioxolane, 2-heptyl	0.42
6	15.047	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl	0.44
7	15.723	Linalyl acetate	6.99
8	19.57	beta.-Phenylethyl butyrate	0.44
9	20.31	Nopyl acetate	1.36
10	22.644	2-Phenoxyethyl isobutyrate	0.60
11	24.354	Diethyl Phthalate	17.46
12	25.997	Ethanone, 1-(2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulen-5-yl)	0.73
13	28.329	Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl	0.57
14	48.648	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	2.41
15	48.746	1-Methylbutyl hexadecanoate	2.54
16	48.826	1-Methylbutyl hexadecanoate	2.15
17	48.924	1-Methylbutyl hexadecanoate	1.02
18	49.212	1-Methylbutyl hexadecanoate	1.39

decahydro-3,1,7-trimethyl-4-methylene – 3.25 %, myrtenyl acetate – 3.03 %, azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl) – 2.16 %, bisabolol oxide B – 1.86 %, linalool – 1.84 %, cis-beta-farnesene – 1.46 %, 3-carene – 1.12 %.

Commercial chamomile essential oil was dominated by 3-methoxy-3-methylbutanol (56.15 %), diethyl phthalate (17.46 %), linalyl acetate (6.99 %), linalool (4.41 %).

In the essential oil of chamomile, grown on the educational and research site of medicinal plants of ZSMPHU and commercial, 2 components – linalool (1.84 % and 4.41 %, respectively) and eucalyptol (0.81 % and 0.59 %, respectively) were identified.

Discussion

Azulene-containing compounds, which cause its blue color, are markers of the quality of essential oil of medicinal chamomile (*Matricaria recutita* L.) [11]. Hamazulene was identified only in the essential oil of chamomile grown at the medicinal plant research area of ZSMPHU.

The composition of biologically active substances in the essential oil of medicinal chamomile (*Matricaria recutita* L.), grown at the educational and research site of medicinal plants of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, and commercial essential oil purchased over the Internet may differ due to several key factors.

Firstly, the lower component composition of the commercial essential oil can be attributed to the fact that the plants were grown in different regions with varying climatic conditions. These environmental differences significantly impact plant metabolism and, consequently, the composition of biologically active substances (BAS).

Secondly, the methods of collection and processing used for the essential oils can vary. Commercial processes may involve high temperatures or chemical solvents that can alter the BAS composition. These methods can potentially degrade sensitive components or change the overall chemical profile of the essential oil.

Thirdly, the timing of harvesting plays a crucial role in the quality and quantity of essential oil extracted from the plant material. Harvesting raw materials at the incorrect time can reduce the total amount of essential oil available. The accumulation of essential oils in chamomile occurs gradually, reaching its peak during the full flowering phase. Essential oil components such as chamazulene, α -bisabolol, bisabolol oxide, and linalool achieve their optimal concentrations during this phase. If the harvesting is done either too early or too late, the concentrations of these active substances can be significantly lower, impacting the efficacy and quality of the essential oil.

The use of different distillation methods can affect the composition of the oil, including the loss or change of certain components. Unknown conditions of storage and

transportation can lead to changes in the composition of the oil, including the loss of volatile components. Inadmissible impurities are possible during the procurement of raw materials or adulteration, such as the addition of synthetic components or dilution with other oils, which affects the final composition of BAS.

Conclusions

1. The results of the chromatographic-mass spectrometric study revealed the presence of 48 compounds in the essential oil of chamomile grown at the educational and experimental site of medicinal plants of ZSMPHU. Among these compounds, the following components were predominant: 2*H*-pyran-3-ol, tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl) – 7.54 %, chamazulene – 5.32 %, alpha-bisabolol – 4.30 %, 1*H*-cycloprop[*e*]azulen-7-ol, decahydro-3,1,7-trimethyl-4-methylene – 3.25 %, myrtenyl acetate – 3.03 %, and azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl) – 2.16 %.

2. The commercial chamomile essential oil, obtained through an online purchase, was predominantly composed of 3-methoxy-3-methylbutanol (56.15 %), diethyl phthalate (17.46 %), linalyl acetate (6.99 %), and linalool (4.41 %).

3. The components common to both essential oils were linalool (1.84 % and 4.41 %, respectively) and eucalyptol (0.81 % and 0.59 %, respectively).

4. The absence of the characteristic blue color and the insignificant component composition of the commercial essential oil may indicate that the chamomile raw material was harvested during the wrong phase of vegetation or that the incorrect type of chamomile was utilized as the source of oil, thus impacting the essential oil's quality.

5. The studies have demonstrated the viability of industrially cultivating chamomile in the conditions of southern Ukraine, given its high content of biologically active substances and potential demand in the raw material market for the pharmaceutical industry.

Funding

The research was carried out as part of the comprehensive work of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about the authors:

Panasenko O. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

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)

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

ORCID ID: [0000-0002-0448-4677](https://orcid.org/0000-0002-0448-4677)

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

ORCID ID: [0000-0002-4099-8042](https://orcid.org/0000-0002-4099-8042)

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

ORCID ID: [0000-0001-7787-0969](https://orcid.org/0000-0001-7787-0969)

Відомості про авторів:

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, 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.

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

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

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

References

- Mežaka I, Kronberga A, Nakurte I, Taškova I, Jakovels D, Primavera A. Genetic, chemical and morphological variability of chamomile (*Chamomilla recutita* L.) populations of Latvia. Industrial crops and products. 2020;154:112614. doi: [10.1016/j.indcrop.2020.112614](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112614)
- Katsoulis GI, Kimbaris AC, Anastasaki E, Damalas CA, Kyriazopoulos AP. Chamomile and Anise Cultivation in Olive Agroforestry Systems. Forests. 2022;13(1):128. doi: [10.3390/f13010128](https://doi.org/10.3390/f13010128)
- Albrecht S, Otto LG. *Matricaria recutita* L.: True Chamomile. In: Novak J, Blüthner WD, editors. Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants. Handbook of Plant Breeding, vol 12. Springer, Cham; 2022. p. 313-31. doi: [10.1007/978-3-030-38792-1_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1_7)
- El Mihaoui A, Esteves da Silva JC, Charfi S, Candela Castillo ME, Lamarti A, Arnao MB. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses. Life (Basel). 2022;12(4):479. doi: [10.3390/life12040479](https://doi.org/10.3390/life12040479)
- Moisiienko V, Nazarchuk O. [Yield of chamomile medicinal depending on sowing date and fertilizing in terms of climate change]. Scientific horizonz. 2019;(2):3-12. Ukrainian. doi: [10.48077/2663-2144-2019-75-2-3-12](https://doi.org/10.48077/2663-2144-2019-75-2-3-12)
- Kwiatkowski CA, Haliniarz M, Harasim E. Weed infestation and health of organically grown chamomile (*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.) depending on selected foliar sprays and row spacing. Agriculture (Switzerland). 2020;10(5):168. doi: [10.3390/agriculture10050168](https://doi.org/10.3390/agriculture10050168)
- Kyslychenko VS, Lenchuk LV, Gurieva IG, Kuznietsova VY, Kyslychenko OA, Fedosov AI, et al. Pharmacognosy. Kharkiv, Ukraine: Golden Pages; 2019.
- Ashirova ZB, Kuzhantaeva ZZ, Abdrassulova ZT, Shaimerdenova GZ, Atanbaeva GK. Studying Phytochemical Features of Three Asteraceae Herbs Growing Wild in Kazakhstan. Floresta e Ambiente. 2021;28(4):2-8. doi: [10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0060](https://doi.org/10.1590/2179-8087-FLORAM-2021-0060)
- Dai YL, Li Y, Wang Q, Niu FJ, Li KW, Wang YY, et al. Chamomile: A Review of Its Traditional Uses, Chemical Constituents, Pharmacological Activities and Quality Control Studies. Molecules. 2022;28(1):133. doi: [10.3390/molecules28010133](https://doi.org/10.3390/molecules28010133)
- Kolanos R, Stice SA. German chamomile. In: Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity. Academic Press. 2021;757-72. doi: [10.1016/B978-0-12-821038-3.00044-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821038-3.00044-6)
- Kimura R, Schwartz JA, Romeiser JL, Senzel L, Galanakis D, Halper D, et al. The Acute Effect of Chamomile Intake on Blood Coagulation Tests in Healthy Volunteers: A Randomized Trial. J Appl Lab Med. 2024 Feb 1;:jfad120. doi: [10.1093/jalm/jfad120](https://doi.org/10.1093/jalm/jfad120)
- Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2015. Ukrainian.
- Panasenko OI, Mozul VI, Denysenko OM, Aksonova II, Oberemko TV. (2021). Chromato-mass-spectroscopic research of chemical composition of *Elaeagnus angustifolia* L. Current issues in phar-

- macy and medicine: science and practice. 2021;14(2):179-84. doi: [10.14739/2409-2932.2021.2.233708](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.233708)
14. Panasenko OI, Aksonova II, Denysenko OM, Mozul VI, Holovkin VV. [Investigation of chemical composition of *Ailanthus Altissima* (Mill.) Swingle]. Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2020;13(3):341-8. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2020.3.216188](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216188)
 15. Zengin G, Mollica A, Arsenijević J, Pavlič B, Zeković Z, Sinan KI, et al. A Comparative Study of Chamomile Essential Oils and Lipophilic Extracts Obtained by Conventional and Greener Extraction Techniques: Chemometric Approach to Chemical Composition and Biological Activity. *Separations*. 2023;10(1):18. doi: [10.3390/separations10010018](https://doi.org/10.3390/separations10010018)
 16. Mahdavi B, Ghorat F, Nasrollahzadeh MS, Hosseyni-Tabar M, Rezaei-Seresht H. Chemical Composition, Antioxidant, Antibacterial, Cytotoxicity, and Hemolyses Activity of Essential Oils from Flower *Matricaria chamomilla* var. *Chamomilla*. *Anti-Infective Agents*. 2019;18(3):224-32. doi: [10.2174/2211352517666190528114041](https://doi.org/10.2174/2211352517666190528114041)



Розробка оптимального складу таблеток із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом.

Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густину, насипну густину після усадки, текучість і кут природного укосу порошкових мас

Р. О. Щербина ^{id}*E,F, О. В. Хромильова ^{id}A-D, Г. Р. Німенко ^{id}B-D, В. О. Саліонов ^{id}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

Фармацевтична промисловість постійно вдосконалюється, щоб відповідати потребам сучасного суспільства у високоякісних лікарських засобах. Один зі шляхів розвитку – пошук нових технологій для виготовлення таблетованих форм, що відповідають сучасним стандартам якості. Важливим етапом є визначення оптимальних допоміжних речовин, що максимально зберігають фармакологічну активність діючої речовини. Дослідження впливу різних допоміжних речовин на процес пресування таблеток є ключовим у цьому аспекті. Доцільним є вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні властивості таблеток із калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом, оскільки субстанція має виражені гепатопротекторні й антиоксидантні властивості.

Мета роботи – вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники таблеток із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом, отриманих методом прямого пресування.

Матеріали і методи. Діюча речовина – калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат, допоміжні речовини (на основі мікрокристалічної целюлози, гранульованих цукрів, ковзні, змащувальні речовини). Перевірили порошкові суміші на насипну густину, насипну густину після ущільнення, текучість і кут природного укосу. Пресували таблетки методом прямого пресування. Досліджено вплив допоміжних речовин на процес пресування.

Результати. У результаті досліджень встановили, що порошкова маса 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату калію та допоміжних речовин характеризувалася хорошими фармако-технологічними показниками – насипною густиною і насипною густиною після ущільнення, текучістю і кутом природного укосу. Далі у процесі таблетування підтверджено, що порошкова маса має задовільні властивості. Майже у всіх серіях експерименту процес пресування таблеток перебігав нормально, матриця рівномірно заповнена, але сила виштовхування таблеток із матриці різна.

Висновки. Для розроблення складу й технології нового таблетованого лікарського засобу, що містить калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат, досліджено 16 допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, ковзні речовини, змащувальні речовини). Це дало змогу визначити оптимальні допоміжні речовини, що відповідають усім фармако-технологічним вимогам, що висуває ДФУ до таблеток.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, фармако-технологічні показники, таблетована лікарська форма, пряме пресування.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 144-149

Development of the optimal composition of tablets with the active substance potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate. Message 1. Study of the effect of auxiliary substances on bulk density, bulk density after shrinkage, fluidity and angle of natural slope of powder masses

R. O. Shcherbyna, O. V. Khromylova, H. R. Nimenko, V. O. Salionov

The pharmaceutical industry continually evolves to meet the demands of modern society for high-quality medications. One avenue of this advancement involves exploring new technologies for manufacturing tablet formulations that adhere to contemporary quality standards.

ARTICLE INFO



UDC 615.31'792:615.453.6].014
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.300704

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):144-149

Keywords: 1,2,4-triazole, pharmaco-technological indicators, tablet, dosage form, direct pressing.

*E-mail: rscherbyna@gmail.com

Received: 27.03.2024 // Revised: 15.04.2024 // Accepted: 18.04.2024

An integral aspect of this process is the careful selection of optimal excipients that preserve the pharmacological activity of the active substance to the greatest extent possible. Investigating the impact of various excipients on the tablet compression process is pivotal to addressing this challenge. Therefore, the study of the influence of excipients on the pharmaco-technological properties of tablets with potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate is an important aspect, so as this substance has pronounced hepatoprotective and antioxidant properties.

The aim of the work was to study the effect of excipients on the pharmaco-technological parameters of tablets with the active ingredient potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate obtained by the method direct pressing.

Materials and methods. Active substance – potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate, auxiliary substances (excipients based on microcrystalline cellulose, auxiliary substances based on granulated sugars, lubricants, lubricants). The powder mixtures were checked for bulk density, bulk density after compaction, flowability and angle of natural slope. The tablets were pressed by the direct pressing method. The effect of auxiliary substances on the pressing process was studied.

Results. The conducted studies show that the powder mass of potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate and auxiliary substances was characterized by good pharmaco-technological indicators – bulk density and bulk density after compaction, fluidity and angle of natural slope. Further, during the tableting process, it was confirmed that the powder mass has satisfactory properties. In almost all series of experiments, the process of pressing the tablets took place without difficulties, the matrix was evenly filled, but the force of pushing the tablets out of the matrix was different.

Conclusions. The study involving 16 excipients, including fillers, disintegrants, and lubricants to develop the composition and technology was conducted of a new tablet medicine containing potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate. This comprehensive examination enabled us to identify the optimal auxiliary substances that fulfill all the pharmaco-technological requirements stipulated by the State Pharmacopoeia of Ukraine for tablet formulations.

Keywords: 1,2,4-triazole, pharmaco-technological indicators, tablet, dosage form, direct pressing.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):144-149

Фармацевтична промисловість постійно розвивається для задоволення потреб сучасного суспільства у високоякісних та ефективних лікарських засобах [1,2]. Один зі шляхів розвитку – пошук нових технологій і складів для виготовлення таблетованих форм лікарських засобів, які б максимально відповідали сучасним стандартами якості та безпеки [3,4].

У цьому контексті особливу актуальність має дослідження впливу допоміжних речовин (ДР) на фармако-технологічні показники таблеток із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом.

Фармацевтичні параметри цієї субстанції вже наведено у фаховій літературі [5]. Так, вона має виражені гепатопротекторні [6,7,8,9] й антиоксидантні властивості [10]. Це свідчить про її потенційну ефективність під час лікування гепатитів різної етіології та оксидативного стресу.

Важливий етап під час розроблення нових лікарських форм – вибір оптимальних допоміжних речовин [11], що не лише забезпечують необхідні фармако-технологічні показники, але й максимально зберігають фармакологічну активність діючої речовини [12]. Дослідження впливу різних допоміжних речовин на процес пресування таблеток є ключовим у цьому аспекті [11,14].

Отже, доцільним є дослідження впливу різних допоміжних речовин на фармако-технологічні властивості виготовлення таблеток із калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом, оскільки це може сприяти надалі створенню потенційного лікарського засобу.

Мета роботи

Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники таблеток із діючою речовиною калій

2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом, отриманих методом прямого пресування.

Матеріали і методи дослідження

Під час створення таблеток із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом враховували її фізико-хімічні й технологічні властивості. Вивчали форму та розміри часток методом електронної мікроскопії за допомогою комп'ютерної програми Inter Video WinDVR.

У результаті дослідження встановили, що субстанція калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат – полідисперсний кристалічний порошок у вигляді пластинчастих багатогранників та їх фрагментів. Фракція, що домінує, – ізодіаметричні частинки неправильної форми; середнє значення ширини часток становить 170 мкм, середня довжина часток порошку – 238 мкм (рис. 1).

Результати дослідження фізико-хімічних і фармако-технологічних показників субстанцій калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату дають змогу прогнозувати, а надалі й підтвердити можливість отримання таблеток саме методом прямого пресування.

Для одержання таблеток особливу увагу необхідно приділити визначенню раціональних ДР, що використовують під час прямого пресування, зокрема допоміжним речовинам на основі мікрокристалічної целюлози, цукру-піску, ковзним, змашувальним речовинам [12]. ДР мають забезпечувати певні фармако-технологічні показники, що Державна фармакопея України (ДФУ) регламентує для таблеток [15].

Під час роботи досліджено чотири групи ДР. У таблиці 1 наведено фактори та їхні рівні.

Таблиця 1. Допоміжні речовини, досліджені під час розробки таблеток

Фактори	Рівні факторів
A – допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози	a_1 – МКЦ 101 a_2 – просолв 90 a_3 – МКЦ 301 a_4 – МКЦ 200
B – допоміжні речовини на основі гранульованих цукрів	b_1 – манітол 200 b_2 – лактоза моногідрат b_3 – манітол 505 b_4 – цукор компрі М
C – ковзні речовини	c_1 – крохмаль картопляний c_2 – аеросил c_3 – тальк c_4 – неусилін УС 2
D – змащувальні речовини	d_1 – магнію стеарат d_2 – кислота стеаринова d_3 – кальцію стеарат d_4 – ПЕГ 4000

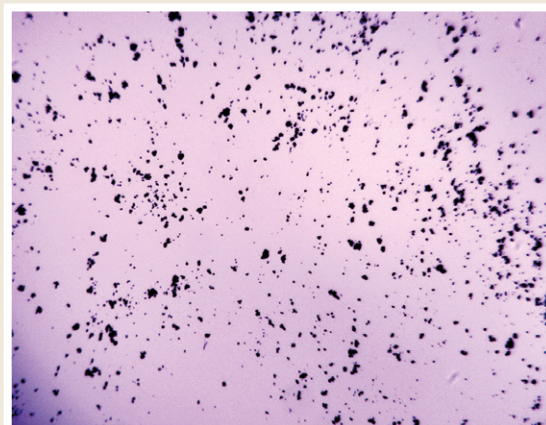


Рис. 1. Мікрофотографія порошку субстанції калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат (масштаб 1 : 400).

Таблиця 2. Чотирифакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату та результати дослідження порошкових сумішей і таблеток із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом

№	A	B	C	D	y_1	y_1'	y_2	y_2'	y_3	y_3'	y_4	y_4'	y_5	y_5'
1	a_1	b_1	c_1	d_1	0,40	0,43	0,53	0,51	3,11	2,9	27	29	5	4
2	a_1	b_2	c_2	d_4	0,45	0,47	0,51	0,53	2,32	2,34	23,5	24	4	3
3	a_1	b_3	c_3	d_2	0,55	0,53	0,72	0,71	5,32	5,29	35	33	4	4
4	a_1	b_4	c_4	d_3	0,51	0,53	0,62	0,61	1,5	1,52	25	26	4	4
5	a_2	b_1	c_2	d_3	0,37	0,38	0,51	0,52	5,66	5,64	32	31	3	4
6	a_2	b_2	c_1	d_2	0,55	0,54	0,65	0,64	1,08	1,1	20,5	21	5	4
7	a_2	b_3	c_4	d_4	0,48	0,49	0,69	0,68	4,63	4,61	39	38	3	3
8	a_2	b_4	c_3	d_1	0,55	0,53	0,72	0,71	1,99	1,97	37	35	4	4
9	a_3	b_1	c_3	d_4	0,45	0,46	0,65	0,63	5,36	5,34	27,5	28	3	3
10	a_3	b_2	c_4	d_1	0,48	0,46	0,69	0,67	2,56	2,58	34	32	4	5
11	a_3	b_3	c_1	d_3	0,51	0,49	0,68	0,69	2,53	2,51	36	35	5	4
12	a_3	b_4	c_2	d_2	0,44	0,43	0,6	0,58	3,16	3,14	31,5	31	4	4
13	a_4	b_1	c_4	d_2	0,44	0,46	0,60	0,61	3,03	3,01	39	37	5	4
14	a_4	b_2	c_3	d_3	0,51	0,50	0,72	0,73	3,32	3,29	36	34	4	4
15	a_4	b_3	c_2	d_1	0,45	0,43	0,60	0,62	3,75	3,72	28,5	29	4	3
16	a_4	b_4	c_1	d_4	0,45	0,44	0,72	0,74	2,56	2,54	29,5	30	3	3

y_1 і y_1' : вільна насипна густина першої та другої серії відповідно, г, см³; y_2 і y_2' : насипна густина порошоків після ущільнення першої та другої серії відповідно, г, см³; y_3 і y_3' : текучість порошкових мас першої та другої серії відповідно, 100 г/с; y_4 і y_4' : кут природного укусу порошоків мас першої та другої серії відповідно, град.; y_5 і y_5' : процес пресування таблеток першої та другої серії відповідно, бал.

Під час дослідження використали сертифіковані ДР вітчизняного і зарубіжного виробництва.

Таблетки з діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом готували за класичною схемою, яку використовують для отримання таблеток методом прямого пресування.

Для вивчення чотирьох якісних факторів використали греко-латинський квадрат 4×4 (табл. 2) [13,14].

Для дослідження чотирьох показників якості порошоків суміші діючої та допоміжних речовин готують за загальними правилами змішування порошоків. Перевіряли

порошкові суміші на насипну густина, насипну густина після ущільнення, текучість і кут природного укусу [15]. Пресування таблеток виконали на лабораторному таблетопресі.

Результати

Виготовлено 16 серій таблеткових мас із діючою речовиною калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом у лабораторних умовах. Дослідження здійснили у двох повторах згідно з

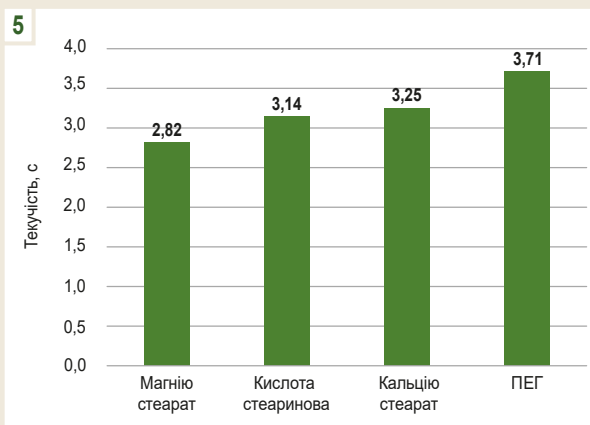
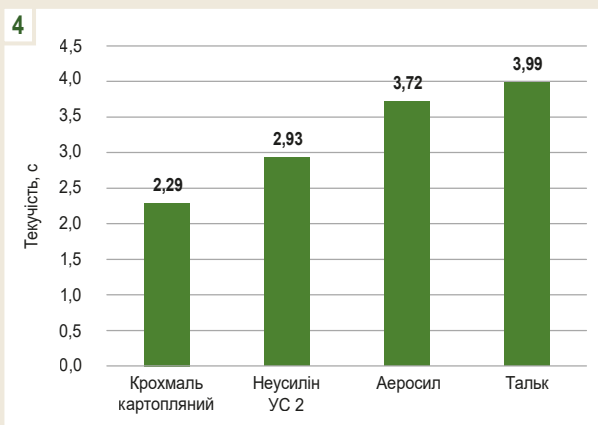
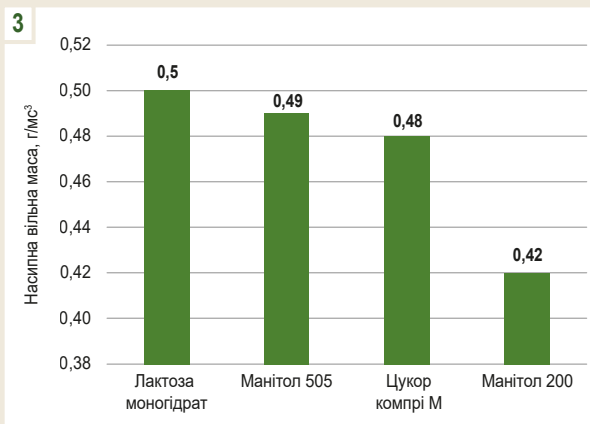
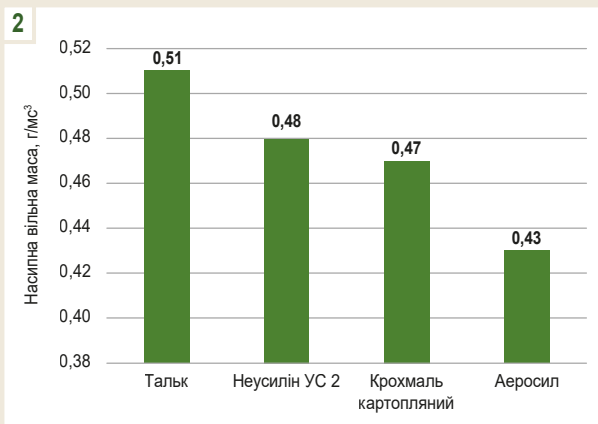


Рис. 2. Вплив фактора С на насипну густину.

Рис. 3. Вплив фактора В (зразків цукрів) на насипну густину.

Рис. 4. Вплив природи ковзних речовин на текучість порошкових мас.

Рис. 5. Вплив природи змащувальних речовин на текучість порошкових мас.

планом 4×4 греко-латинського квадрата [13,14]. У таблиці 2 наведено матрицю планування експерименту та результати дослідження таблеткових мас.

Дисперсійний аналіз насипної густини показав, що фактори А і D не були статистично значущими. На рис. 2 наведено вплив фактора С на насипну густину. Допоміжні речовини, що вивчали, за впливом на насипну густину порошоків можна розташувати в такому порядку: тальк > неусилін УС 2 > крохмаль картопляний > аеросил. Втім, за даними рис. 2, суттєвої різниці за впливом допоміжних речовин на вільну насипну густину досліджених порошоків немає.

Далі розглянули вплив фактора В (зразків цукрів) на насипну густину. Результати вивчення впливу цього фактора наведено на рис. 3. Встановили, що ДР за впливом на вільну насипну густину порошоків можна розмістити в такому порядку: лактоза моногідрат > манітол 505 > цукор компрі М > манітол 200.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав: усі вивчені фактори статистично не відрізнялися за впливом на насипну масу порошкових мас після ущільнення. Тобто при використанні будь-якої з 16 вивчених

ДР отримали зіставні показники насипної маси після ущільнення. Приготовані порошкові маси дослідили на текучість. Визначили, що на неї впливають такі фактори: $D > C$; вплив факторів А і В статистично не відрізнявся.

Вплив природи ковзних речовин на текучість порошкових мас наведено на рис. 4. За впливом зразків ковзних речовин їх можна розташувати в такому порядку: крохмаль картопляний > неусилін УС 2 > аеросил > тальк.

Вплив природи змащувальних речовин на текучість порошкових мас наведено на рис. 5. Вивчені допоміжні речовини за впливом на текучість порошкових мас можна розмістити в такій послідовності: магнію стеарат > кислота стеаринова > кальцію стеарат > ПЕГ.

Вплив природи ковзних речовин на кут природного укусу наведено на рис. 6. Виявили, що найнижче значення кута природного укусу одержали при використанні крохмалю картопляного, якому дещо поступається аеросил. При використанні тальку та неусиліну УС 2 значення кута природного укусу порошкових мас погіршується.

На рис. 7 наведено вплив дії фактора В. У результаті аналізу даних встановили, що лідером серед цукрів вия-

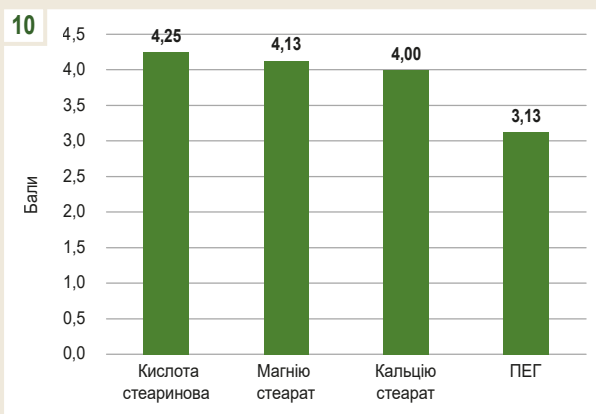
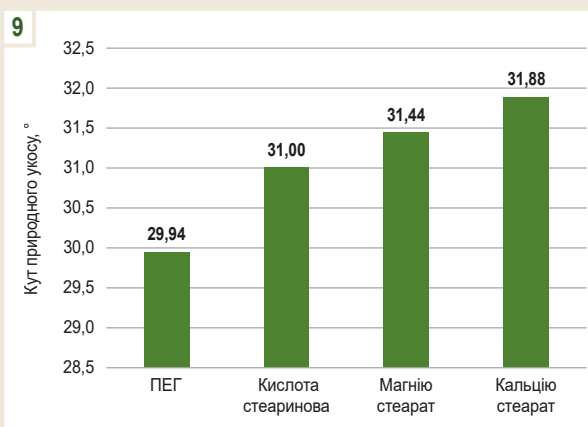
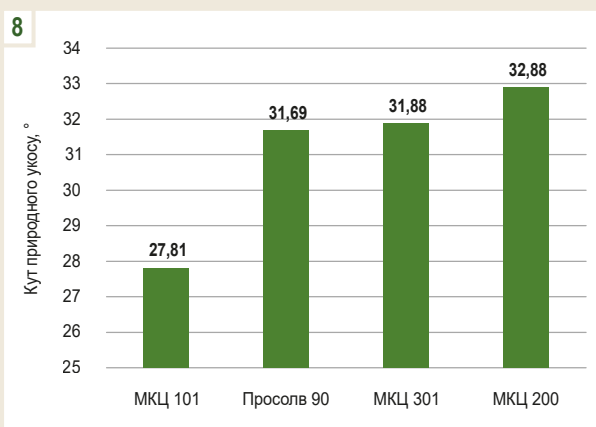
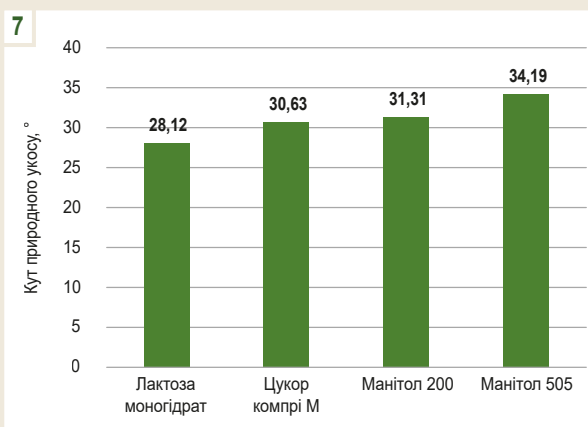
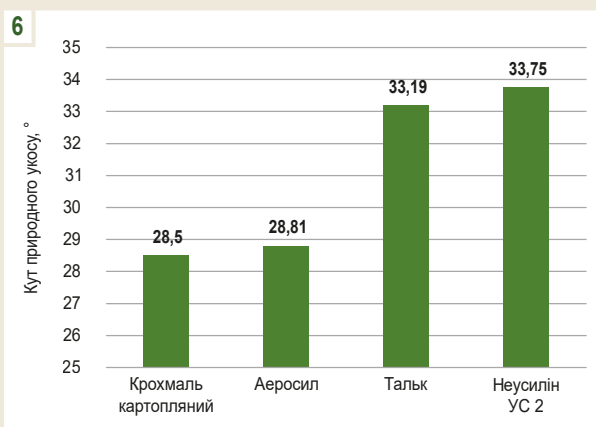


Рис. 6. Вплив природи ковзних речовин на кут природного укоси маси для таблетування.

Рис. 7. Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на кут природного укоси.

Рис. 8. Вплив природи допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на кут природного укоси.

Рис. 9. Вплив природи змащувальних речовин на кут природного укоси.

Рис. 10. Вплив природи змащувальних речовин на процес пресування.

вилася лактоза моногідрат. Визначили її невелику перевагу над цукром компрі М, манітолом 200 та манітолом 505.

На рис. 8 наведено результати дослідження впливу природи ДР на основі мікрокристалічної целюлози на кут природного укоси. Виявили, що найкращий результат отримали в разі використання МКЦ 101. Крім того, серії, в яких вивчали просольв 90, МКЦ 301 та МКЦ 200, незначущо відрізнялися за впливом на кут природного укоси та були гіршими. Вплив природи змащувальних речовин на кут природного укоси наведено на рис. 9.

При таблетуванні на лабораторній таблетковій машині статистично значущим виявився фактор D (змащувальні речовини). Вплив природи змащувальних речовин на процес пресування наведено на рис. 10.

Найкращий перебіг процес пресування таблеток мав у разі використання як розпушувача кислоти стеаринової, якій дещо поступаються магнію стеарат і кальцію стеарат, суттєво поступається ПЕГ.

Обговорення

У результаті дослідження встановлено, що порошкова маса калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату і допоміжних речовин за багатьма відгуками характеризується хорошими фармако-технологічними показниками (насіпна густина і насіпна густина після ущільнення, текучість і кут природного укоси). Задовільні властивості порошкових мас підтверджені

процесом пресування таблеток. Майже у всіх серіях експерименту процес пресування таблеток перебігав нормально, матриця рівномірно заповнена, але сила виштовхування таблеток із матриці різна.

Висновки

1. Здійснили морфометричні дослідження субстанцій калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату.

2. Для отримання нового лікарського засобу, що містить калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат, у формі таблеток дослідили 16 допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, ковзні, змашувальні речовини). Визначили оптимальні допоміжні речовини, що забезпечували всі фармако-технологічні показники, які регламентує ДФУ для таблетованої лікарської форми.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження впливу різних допоміжних речовин на процес пресування таблеток є ключовим у вирішенні проблеми розроблення лікарської форми. Наступні дослідження, спрямовані на вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні властивості таблеток з калій 2-((4-аміно-5-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетатом, є перспективним напрямом, оскільки ця субстанція характеризується гепатопротекторними й антиоксидантними властивостями.

Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету на тему: «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», держреєстрація № 0123U103937 (2023–2028).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Щербина Р. О., д-р фарм. наук, професор каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9742-0284

Хромильова О. В., д-р фарм. наук, професор каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5274-9676

Німенко Г. Р., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6486-5113

Саліонов В. О., канд. фарм. наук, доцент каф. біологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4914-0509

Information about the authors:

Shcherbina R. O., PhD, DSc, Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Khromylova O. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

Nimenko H. R., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Salionov V. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Barrett JS. Phases of drug development and drug development paradigms. In: Fundamentals of Drug Development [Internet]. 2022. p. 79-100. doi: 10.1002/9781119913276.ch5
- Biala G, Kedzierska E, Kruk-Slomka M, Orzelska-Gorka J, Hmaidan S, Skrok A, et al. Research in the field of drug design and development. *Pharmaceutics*. 2023 Sept 11; 16(9):1283. doi: 10.3390/ph16091283
- Abaci A, Gedeon C, Kuna A, Guvendiren M. Additive manufacturing of oral tablets: Technologies, materials and printed tablets. *Pharmaceutics*. 2021;13(2):156. doi: 10.3390/pharmaceutics13020156
- Tovey G. *Pharmaceutical formulation: The Science and Technology of dosage forms*. London, UK: Royal Society of Chemistry; 2018. doi: 10.1039/9781782620402
- Shcherbina R. An investigation of the pharmacokinetics and potential metabolites of potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thio)acetate on rats. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2020;44(2):233-41. doi: 10.33483/jfpanu.681611
- Vashchuk Y, Shcherbina R, Parchenko V, Bushueva I, Gutyj B, Fotina H, et al. Histological study of a corrective influence of a compound potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1, 2, 4-triazol-3-yl)thio)acetate (PKR-173) on the state of chicken's liver under infection by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2020;44(1):1-17. doi: 10.33483/jfpanu.567757
- Shcherbina R, Vashchuk Y. The research of 1,2,4-triazole derivatives hepatoprotective activity under tetracycline and infectious hepatitis. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2019;43(2):135-46. doi: 10.33483/jfpau.487173
- Shcherbina RO, Vashchuk YV. Histological study of potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate (PKR-173) corrective influence on the chickens liver state in the condition of tetracycline hepatitis. *Zaporozhye medical journal*. 2018;20(3):404-12. doi: 10.14739/2310-1210.2018.3.130488
- Shcherbina RO, Samura TO, Kyrychko BP, Zvenihorodska TV, Hyrenko IV. The research of ammonium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate (PKR-177) influence on biochemical indices in rats blood under hepatitis initiated by tetrachloride methane. *Zaporozhye medical journal*. 2017;19(6):819-22. doi: 10.14739/2310-1210.2017.6.115304
- Shcherbina RO, Panasenکو OI, Knysch YH. [The studying of antioxidant activity of salts 2-((4-R-3-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazole-5-yl)thio)acetic acids]. *Ukrainian biopharmaceutical journal*. 2016;(1):37-48. Ukrainian. doi: 10.24959/ubphj.16.7
- Walker GM, Holland CR, Ahmad MMN, Craig DQM. Influence of process parameters on fluidised hot-melt granulation and tablet pressing of pharmaceutical powders. *Chemical Engineering Science*. 2005;60(14):3867-77. doi: 10.1016/j.ces.2005.02.007
- Pertsev IM, Dmytrievskiy DI, Rybachuk VD, Khomenko VM, Hudzenko OP, Kotenko OM, et al. Dopomizhni rečovyny v tekhnologii likiv: vplyv na tekhnolohichni, spozhyvchi, ekonomichni kharakterystyky i terapevtychnu efektyvnist [Excipients in drug technology: influence on technological, consumer, economical characteristics and therapeutic effective-ness]. Kharkiv: Zoloti storinky; 2010. Ukrainian.
- Hroshovy TA, Martsenyuk VP, Kucherenko LI, Vronska LV, Huryeyeva CM. Matematychnе planuvannya eksperymentu pry provedenni naukovykh doslidzhen v farmatsii [Mathematical planning of experiment in pharmacy]. Ternopil: Ukrmedknyha; 2008. Ukrainian.
- Hroshovy TA, Beley NM, Kucherenko LI, Vasenda MM, Markiv NV, Tryhubchak OV, et al. [Optimization of technological processes of drugs creation by means of mathematical planning of experiment]. *Farmatsevtichnyi chasopys*. 2007;(1):21-9. Available from: <https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/pharm-chas/article/view/3107>
- Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Vol. 1. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2015. Ukrainian.



Study of the effect of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate toxic doses on rats heart tissue

A. A. Safonov¹, O. I. Panasenko², N. A. Al Khalaf³

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

Analysis of medicinal product safety is an important stage on the way to the entry of a synthetic compound into the pharmaceutical market. Along with the study of blood composition, scientists are actively analyzing the effect of toxic doses on the tissues of internal organs. Analyzing the toxic effect of compounds on heart tissue allows us to find out what damage substances can cause, which can have a direct impact on human health. Today, 1,2,4-triazole derivatives are very relevant and a huge number of publications is a confirmation of this.

The aim of the work was to analyze the effect of toxic doses of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate on rats heart tissue.

Materials and methods. Sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate (ASP) was selected as the subject of investigation and administered intragastrically in the form of a suspension with purified water using a specialized metal probe. The toxic effect on tissues was analyzed using doses of 1000 mg/kg, which is 10 times higher than a single dose typically used in pharmacological activity studies, and 5000 mg/kg, which represents the limit for determining acute toxicity and the maximum dose within the fourth class of toxicity, considering the route of administration, provided that this dose does not result in the death of the animal.

Analysis of the effect of toxic doses of ASP was performed on 12-month-old purebred male rats kept under standard conditions. Rat heart tissues were fixed for further histological examination in a 10 % formaldehyde solution, dehydrated in alcohols of increasing strength, and embedded in paraffin.

Results. Macroscopic and microscopic analysis of rat heart tissue was carried out. The research shows the histological results of deviations from the norm for a group of rats that were injected with substances in the studied doses.

Conclusions. The effect of toxic doses of ASP on rat heart tissue was analyzed. For a dose of 1000 mg/kg, local signs of protein dystrophy of cardiomyocytes and single loci of hemorrhages are observed. As for the dose of 5000 mg/kg, the effect of the substance on the heart tissue is more profound and is determined by the selective damage of cardiomyocytes with the loss of lumbar striation and the acquisition of a wave-like shape, full blood is observed in the ectasized capillaries.

Keywords: 1,2,4-triazole, rats, heart tissue, toxic action.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):150-153

Дослідження впливу токсичних доз 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату на тканину серця щурів

A. A. Сафонов, О. І. Панасенко, Н. А. Аль Халаф

Аналіз безпечності лікарського засобу є важливим етапом на шляху синтетичної сполуки до фармацевтичного ринку. Разом із дослідженням складу крові, вчені активно аналізують вплив токсичних доз на тканини внутрішніх органів. Аналіз токсичного впливу сполук на тканини серця дає змогу з'ясувати, які пошкодження можуть викликати речовини, опосередковано впливаючи на здоров'я людини. Нині похідні 1,2,4-тріазолу залишаються актуальним об'єктом дослідження, що підтверджено величезною кількістю публікацій.

Мета роботи – аналіз впливу токсичних доз 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату на тканини серця щурів.

Матеріали і методи. Як об'єкт дослідження використано 2-((4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат (ASP), який вводили внутрішньошлунково у формі суспензії з очищеною водою за допомогою спеціального металевго зонда. Для аналізу токсичного впливу на тканини обрали дози 1000 мг/кг (це вдесятеро перевищує разову дозу, що рекомендована під час вивчення фармакологічної активності досліджуваної сполуки) та 5000 мг/кг (граничний показник для визначення гострої токсичності й максимальна доза четвертого класу токсичності, враховуючи шлях введення, якщо ця доза не призводить до смерті тварини).

ARTICLE INFO



UDC 615.31.099:547.792'732:611.12.018]-092.9
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.300859](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.300859)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):150-153

Keywords: 1,2,4-triazole, rats, heart tissue, toxic action.

*E-mail: 8safonov@gmail.com

Received: 11.03.2024 // Revised: 28.03.2024 // Accepted: 05.04.2024

Дію токсичних доз ASP досліджували на білих безпородних щурах-самцях віком 12 місяців, яких утримували за стандартних умов. Тканини серця щурів для гістологічного дослідження фіксували в 10 % розчині формальдегіду, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації, заливали парафіном.

Результати. Здійснили макроскопічний і мікроскопічний аналіз тканини серця щурів. У дослідженні наведено гістологічні результати відхилень від норми для групи щурів, яким вводили речовину в дозах, що вивчали.

Висновки. Проаналізовано вплив токсичних доз ASP на тканини серця щурів. Встановили, що доза ASP 1000 мг/кг спричиняє локальні ознаки білкової дистрофії кардіоміоцитів й одиничні локуси крововиливів. У разі введення ASP у дозі 5000 мг/кг вплив речовини на тканину серця істотніший, визначається селективним пошкодженням кардіоміоцитів із втратою поперекової смугастості та набуттям хвилеподібної форми, виявили повнокров'я в ектазованих капілярах.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, тканина серця щурів, токсична дія.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С.150-153

According to statistics from the World Health Organization, cardiovascular diseases have been the leading cause of death for over 20 years. The heart is one of the main life-sustaining organs of a person. Along with other organs, the heart is a “target organ” and, therefore, is mandatory for research [1]. Analyzing the toxic effect of compounds on heart tissue allows us to find out what damage substances can cause, which can have a direct impact on human health.

1,2,4-Triazole derivatives can be chosen among the new substances that can become medicines in the future. Today, they are very relevant and a huge number of publications is a confirmation of that [2,3,4,5,6,7,8,9]. Scientists from all over the world are working on the development of substances [10,11,12,13,14].

Analysis of the safety of a medicinal product is an important stage on the way to the entry of a synthetic compound into the pharmaceutical market [15]. Along with the study of blood composition, scientists are actively analyzing the effect of toxic doses on the internal organs tissues.

Aim

Thus, the aim of the study is to analyze the effect of toxic doses of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate on rats heart tissue.

Material and methods

Sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate (ASP) [16] was used as the object of study and administered intragastrically in the form of a suspension with purified water using a special metal probe. It was chosen for doses of 1000 and 5000 mg/kg (the limiting indicator for determining acute toxicity is the maximum dose of the fourth class of toxicity (low-toxic substances), taking into account the route of administration).

Analysis of the effect of ASP toxic doses was performed on white outbred male rats aged 12 months, which were kept in standard conditions [17]. All stages of the study were conducted by the Directive of the European Parliament and of the Council 2010/63/EU of 22 September 2010 “On the protection of animals used for scientific purposes” (Approval of the ethics committee No. 5 of 05.09.2023) [18].

The rats heart tissue was fixed for further histological examination in 10 % formaldehyde solution, dehydrated in

alcohols of increasing strength, poured into paraffin. Analysis of micropreparations was performed under a Granum light microscope.

Results

At the beginning of the study, the heart of the studied group of animals was weighed, the weight of which was 0.9–1.1 g. For the control group, it was 1.0–1.1 g. Macroscopically, for both groups of animals, the heart was red-purple, densely elastic, coronary vessels full-blooded, with a clear visual course. When the incision is made in the cavities of the ventricles, blood is detected, the walls of the myocardium are red without macroscopic pathology. The atrium is visually without dilatation, a typical configuration (*Fig. 1*).

With a more detailed microscopic analysis of the experimental group (1000 mg/kg) of rats, the following was found: zones of disorganization of cardiomyocytes with preservation of the lumbar striation of myofibrils are identified in the myocardium, the cytoplasm of many cells is eosinophilic, deep. Individual loci of subendocardial hemorrhages are determined. The symplastic structure is not preserved, local signs of protein dystrophy of cardiomyocytes, the fine capillary net is ectasized (*Fig. 2*).

A pathomorphological study of rats' hearts (the group – 5000 mg/kg) was also carried out. The histological structure of the myocardium is disturbed due to the disorganization of cardiomyocytes, which acquire a wave-like structure, the zones of cardiomyocytes with the loss of the lumbar striation of myofibrils are determined, the cytoplasm is eosinophilic, deep, homogeneous in places. The symplastic structure is disturbed, nuclei in a state of karyopyknosis and karyolysis are determined in individual cardiomyocytes. Histological manifestations of intercellular edema, small capillary net ectasized, full-blooded, zones of erythrodiapiesis (*Fig. 3*).

Studying heart tissues of the control group revealed: cardiomyocytes of typical sizes. It should be noted that the transverse striation and symplastic structure are preserved in all cells, the nuclei are typical sizes, oval in shape, basophilic have 1–2 nucleoli (*Fig. 4*). Pacemaker cells of the conducting system of the heart have typical histological structure, rounded shape, with light oxyphilic cytoplasm and a centered nucleus. The capillary net of the myocardium has collapsed, endotheliocytes have a typical histological structure, and single erythrocytes are identified in the lumen. The endocardium has a typical his-

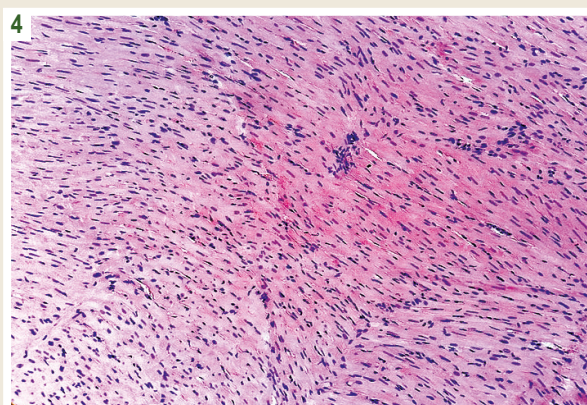
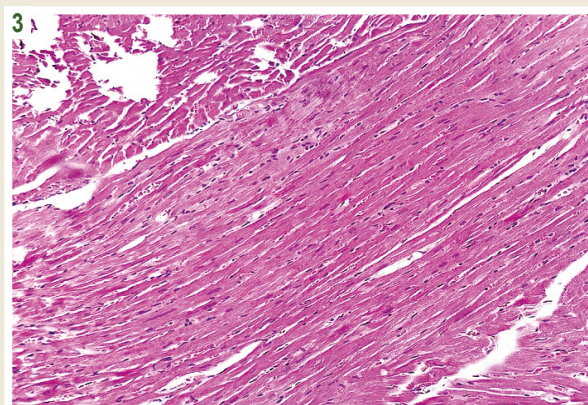
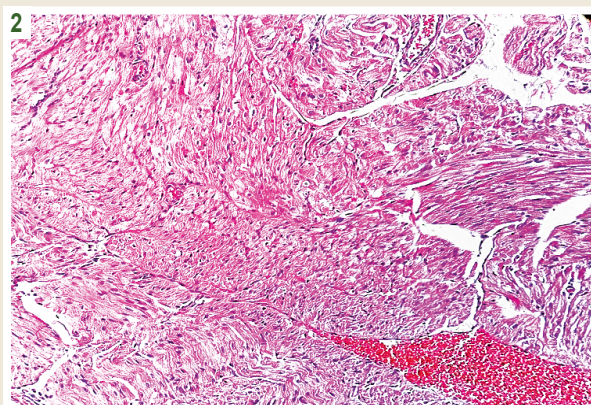


Fig. 1. Projection of the left ventricle of the studied heart (left). Projection of the left ventricle of the control group animal heart (right).

Fig. 2. Protein and vacuolar dystrophy of cardiomyocytes, areas of hemorrhage. Magnified $\times 200$. Stained with hematoxylin and eosin.

Fig. 3. Selective damage to cardiomyocytes with loss of lumbar striation and acquisition of wave-like form of whole blood in ectasized capillaries. Magnified $\times 200$. Stained with hematoxylin and eosin.

Fig. 4. Histological photo of rat myocardium (control group). Magnified $\times 200$. Stained with hematoxylin and eosin.

tological structure, consisting of one layer of endotheliocytes, single connective tissue fibers are determined along the course of cardiomyocytes and around large main vessels.

Discussion

It should be noted that the studied substance ASP affects heart tissue if the data is compared with the control group of rats. It was also established that at a dose of 5000 mg/kg, there

is a loss of lumbar striated myofibrils. In the control group, transverse striation and symplastic structure were preserved in all cells. But, despite this, all the functions of the heart muscle are preserved.

Summarizing the obtained data, it can be concluded that in high doses, the substance begins to have a toxic effect on the heart tissues, and with an increase in the dose, the damage is greater, which is natural. But these damages do not lead to the death of the animal.

Conclusions

1. The effect of toxic doses (1000 mg/kg, 5000 mg/kg) of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate on rat heart tissue was analyzed.
2. For a dose of 1000 mg/kg, local signs of protein dystrophy of cardiomyocytes and single loci of hemorrhages are observed.
3. As for the maximum dose of the fourth class of toxicity (5000 mg/kg), the effect of the substance on the heart tissue is more profound and is determined by the selective damage of cardiomyocytes with the loss of lumbar striation and the acquisition of a wave-like shape, full blood is observed in the ectasized capillaries.

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

Information about the authors:

Safonov A. A., PhD, Associate Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-2861-1826

Panasenko O. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-6102-3455

Al Khalaf N. A., PhD, Senior Lecturer of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-2915-6055

Відомості про авторів:

Сафонов А. А., канд. фарм. наук, доцент каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Аль Халаф Н. А., канд. фарм. наук, старший викладач каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

1. Gupta PK. Target Organ Toxicity. In: Problem Solving Questions in Toxicology: Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 83-117. doi: 10.1007/978-3-030-50409-0
2. Sameliuk Y, Al Zedan F, Kaplaushenko T. 1,2,4-triazole derivatives in medicine and pharmacy and application prospects. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2021;45(3):598-614. doi: 10.33483/jfpau.885888
3. Shcherbyna R. Microwave-assisted synthesis of some new derivatives of 4-substituted-3-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazole-5-thioles. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2019;43(3):220-9. doi: 10.33483/jfpau.533166
4. Safonov A. Microwave synthesis of new N-R-3-(alkylthio)-5-(thiophen-2-ylmethyl)-1,2,4-triazol-4-amines. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2020;44(1):89-98. doi: 10.33483/jfpau.620599
5. Dovbnia D, Frolova Y, Kaplaushenko A. A study of hypoglycemic activity of acids and salts containing 1,2,4-triazole. Ceska Slov Farm. 2023;72(3):113-24.
6. Sameliuk Y, Kaplaushenko A, Nedorezaniuk N, Ostretsova L, Diakova F, Gutyj B. Prospects for the search for new biologically active compounds among the derivatives of the heterocyclic system of 1, 2, 4-triazole. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 2022;42(3):175-86. doi: 10.52794/hujpharm.1019625
7. 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
8. Frolova Y, Kaplaushenko A, Nagornaya N. Design, synthesis, antimicrobial and antifungal activities of new 1,2,4-triazole derivatives containing 1H-tetrazole moiety. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2020;44(1):70-88. doi: 10.33483/jfpau.574001
9. Shcherbyna R. An investigation of the pharmacokinetics and potential metabolites of potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate on rats. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2020;44(2):233-41. doi: 10.33483/jfpau.681611
10. Shcherbyna R, Vashchuk Y. The research of 1,2,4-triazole derivatives hepatoprotective activity under tetracycline and infectious hepatitis. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2019;43(2):135-46. doi: 10.33483/jfpau.487173
11. 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. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2020;44(2):211-9. doi: 10.33483/jfpau.616116
12. Gotsulya A, Zaika Y, Brytanova T. Synthesis, properties and biological potential some condensed derivatives 1,2,4-triazole. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University. 2022;46(2):308-21. doi: 10.33483/jfpau.971602
13. Sameliuk Y, Kaplaushenko A. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, Containing methoxyphenyl substituents at c5atoms, Their antipyretic activity, Propensity to adsorption and acute toxicity. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2014;6(5):1117-21.
14. Safonov AA, Panasenko OI. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of 3-(2-bromophenyl)-5-(alkylthio)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazoles. Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2022;15(3):235-40. doi: 10.14739/2409-2932.2022.3.264691
15. Bondarenko LB, Voronina A K, Shayakhmetova HM, Blazhchuk IS, Karatsuba TA, Kovalenko VM. [Study of essential phospholipids preparation subacute toxicity]. Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia. 2022;16(4):248-63. Ukrainian. doi: 10.33250/16.04.248
16. Knysh Y, Panasenko O, Safonov A, inventors. [Sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate, which shows actoprotective activity]. Ukrainian patent UA 112619. 2016 Sep 26. Available from: <https://sis.nipo.gov.ua/en/search/detail/455441/>
17. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Internet]. Washington, D. C.: National Academies Press; 2011. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
18. European Union. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union, L276/33, 2010.



Антиоксидантна терапія на основі екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) як спосіб зменшення нітративного стресу в еритроцитах крові за експериментального цукрового діабету

I. V. Brodyak¹, A. A. Moroz¹, A. Z. Kucharska², N. O. Sybirna¹

¹Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна, ²Вроцлавський університет природничих наук, Польща

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

За цукрового діабету (ЦД) для запобігання розвитку оксидативно-нітративного стресу застосовують природні антиоксиданти (вітаміни, біофлавоноїди, антоціани тощо), які допомагають відновити функціональні порушення в клітинах і тканинах організму або запобігти їм.

Мета роботи – дослідити вплив екстрактів плодів різних сортів дерену, а також їхнього основного іридоїдного глікозиду – логанової кислоти на активність NO-синтази та рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену в еритроцитах периферичної крові щурів зі стрептозотозин-індукованим ЦД.

Матеріали і методи. Під час роботи використали екстракти плодів дерену справжнього сорту «Podolski» (BDPA 10462), стиглі плоди якого мають червоне забарвлення, сорти «Yantarnyi» (BDPA 14131) і «Flava» (BDPA 8795), стиглі плоди яких мають жовте забарвлення. Логанову кислоту екстрагували з жовтих плодів дерену сортів «Yantarnyi» і «Flava». Екстракти, що вивчали, тваринам вводили перорально впродовж 14 днів, починаючи з десятого дня після індукції ЦД. Дозування становило 20 мг/кг маси тіла.

Результати. Встановлено, що найбільш виражений ефект щодо нормалізації досліджуваних біомаркерів нітративного стресу (активність NO-синтази та її ізоформ, вміст нітрит- і нітрат-аніонів) в еритроцитах крові щурів із діабетом мав екстракт червоних плодів дерену справжнього. Екстракт жовтих плодів дерену пригнічує нітративний стрес, про що свідчить зниження активності індукційної ізоформи NO-синтази до значень, встановлених у контрольній групі тварин. Логанова кислота, навпаки, інгібувала конститутивну ізоформу NO-синтази. Крім того, екстракт жовтих плодів дерену та логанова кислота знижували рівень NO_3^- і збільшували вміст NO_2^- в еритроцитах щурів із ЦД.

Висновки. Нормалізація біомаркерів нітративного стресу в еритроцитах крові щурів зі стрептозотозин-індукованим діабетом вказує на антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього, зокрема сорту «Podolski», стиглі плоди якого містять значну кількість антоціанів.

Ключові слова: стрептозотозин-індукований цукровий діабет, еритроцити, синтаза оксиду нітрогену, нітрит- і нітрат-аніони, екстракти плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.).

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 154-159

Fruit extracts of various cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars as antioxidant therapy for alleviating nitrate stress in erythrocytes of blood in experimental diabetes mellitus

I. V. Brodyak, A. A. Moroz, A. Z. Kucharska, N. O. Sybirna

Natural antioxidants (vitamins, bioflavonoids, anthocyanins, etc.) are used to prevent the development of oxidative-nitrate stress in diabetes mellitus (DM), which helps to restore or avert functional disorders in the cells and tissues of the body.

The aim of the study is to investigate the effect of extracts of the fruit of different cultivars of the cornelian cherry, as well as their main iridoid glycoside – loganic acid, on the activity of NO-synthase and the content of stable metabolites of NO in blood erythrocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes.

Materials and methods. In the work, we used the extract of the fruits of the cornelian cherry “Podolski” cultivar (BDPA 10462), the ripe fruits of which have a red color, and the extract of the “Yantarnyi” (BDPA 14131) and “Flava” (BDPA 8795) cultivars, the ripe fruits of which have a

ARTICLE INFO

UDC 616.379-008.64-085.322:582.788]-092.9
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.301202

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):154-159

Keywords: streptozotocin-induced diabetes mellitus, erythrocytes, nitric oxide synthase, nitrite anions, nitrate anions, extracts of fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.).

*E-mail: iryna.brodyak@lnu.edu.ua

Received: 03.04.2024 // Revised: 29.04.2024 // Accepted: 09.05.2024

yellow color. Loganic acid was extracted from yellow fruits of the “Yantarnyi” and “Flava” cultivars of *Cornus mas* L. All studied extracts were administered to rats orally for 14 days from the 10th day after the induction of DM. The dose of administration was 20 mg/kg body weight.

Results. The extract of the red fruits is demonstrated the most pronounced effect in normalizing the biomarkers of nitrate stress (activity of NO-synthase and its isoforms, the content of nitrite and nitrate anions) in erythrocytes of rats with diabetes. The extract of the yellow fruits shows a positive effect on the suppression of nitrate stress, which has been indicated by a decrease in the activity of iNO-synthase to the values in the control group of animals. Loganic acid, on the contrary, inhibited the eNO-synthase. In addition, the extract of yellow fruits of cornelian cherry and loganic acid decreased the level of NO_3^- and increased the content of NO_2^- in erythrocytes of diabetic rats.

Conclusions. Biomarkers of nitrate stress in erythrocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes indicated the antioxidant properties of fruit extracts of cornelian cherry, in particular the red fruits, which contain a large amount of anthocyanins.

Keywords: streptozotocin-induced diabetes mellitus, erythrocytes, nitric oxide synthase, nitrite anions, nitrate anions, extracts of fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.).

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2): 154-159

Еритроцити, незважаючи на те, що є без'ядерними клітинами крові та позбавлені значної кількості органел, містять до 2650 різних білків [1]. Для цих клітин крові характерна експресія двох ізоформ синтази оксиду нітрогену (Nitric Oxide Synthase – NOS, EC 1.14.13.39) – ендотеліальної та індукційної (eNOS та iNOS відповідно) [2]. Продукт NOS реакції – оксид нітрогену (NO), що бере участь у регуляції вазодилатації, агрегації тромбоцитів, запалення, адаптації до гіпоксії та оксидативного стресу. Зважаючи на це, еритроцити стали перспективною терапевтичною мішенню у підтриманні гомеостазу NO [3].

Оксид нітрогену надзвичайно швидко ($6-8 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$) реагує з оксигемоглобіном, утворюючи кінцеві продукти метаболізму – нітрати (NO_3^-) і метгемоглобін. Окиснення NO до NO_3^- захищає еритроцити від респіраторного отруєння та нітрозативного стресу, проте при патологічних станах цей механізм знижує біодоступність NO. З цієї причини еритроцити спочатку вважали скаведжерами NO, а не його джерелом. Експериментально доведено, що еритроцити можуть не лише синтезувати, але й депонувати та транспортувати NO [4]. Альтернативно NO_2^- відновлюється дезоксигемоглобіном або ксантиноксидоредуктазою, а тому також є джерелом NO [3].

За патофізіологічних станів, включаючи цукровий діабет (ЦД), еритроцити зазнають функціональних змін, що полягають у зниженні експорту біоактивного NO та збільшеному утворенні активних форм Оксигену [5]. Оскільки ЦД належить до вільнорадикальних захворювань, антиоксиданти є надзвичайно корисними для зниження оксидативного стресу, дають змогу відновити структурно-функціональні порушення в еритроцитах або запобігти їм. Захист функцій еритроцитів необхідний не лише для цих клітин крові, але й майже для будь-якої тканини або органа в організмі [6].

Антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) ґрунтуються на здатності безпосередньо поглинати вільні радикали, регулювати опосередкований ензимами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза) і неензиматичний (відновлений глутатіон) антиоксидантний захист організму [7,8,9]. Біологічно активні речовини, що містяться в екстрактах

плодів дерену, можуть модулювати численні сигнальні шляхи (наприклад, кварцетин інгібує активності iNOS, ксантиноксидоредуктази), підтримуючи редокс-баланс на рівні організму [7,8,10,11].

Мета роботи

Дослідити вплив екстрактів плодів різних сортів дерену, а також їхнього основного іридоїдного глікозиду – логанової кислоти на активність NO-синтази та рівень стабільних метаболітів оксиду нітрогену в еритроцитах периферичної крові щурів зі стрептозотоксин-індукованим ЦД.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на самцях білих щурів лінії Wistar. Тварин утримували в стандартних умовах віварію, дотримуючись міжнародних норм щодо гуманного поводження з лабораторними тваринами та вимог ст. 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Біоетичну експертизу дослідів, що здійснили на біологічному факультеті Львівського національного університету імені Івана Франка, оформлено як протокол № 43-03-2024 від 20.03.2024 р.

Тваринам забезпечували вільний доступ до стандартної їжі та води з 12-годинним циклом світло / темрява, із температурою в приміщенні $22 \pm 2^\circ \text{C}$ та вологістю $60 \pm 5\%$.

Після двотижневого періоду адаптації ЦД індукований одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоксину, який розводили в 10 мМ цитратному буфері (рН 4,5). Дозування становило 55 мг на 1 кг маси тіла. Стрептозотоксин введено тваринам, які голодували впродовж ночі. Через 72 год після ін'єкції забирали зразки крові з хвостової вени і вимірювали рівень глюкози в крові глюкозооксидазним методом, використовуючи діагностичний набір «Філісіт» (Дніпро, Україна). Щурі з рівнем глюкози в крові понад 10–12 мМ залучені до експерименту. Контрольну групу сформували з інтактних тварин із рівнем глюкози 3,7–5,0 мМ.

Тварин поділили на п'ять експериментальних груп по 6 щурів у кожній. Перша група – контрольна. У другу групу залучили тварин зі стрептозотоксин-індукованим ЦД. Третю, четверту та п'яту групи сформували зі щурів

з експериментальним ЦД, яким вводили екстракт червоних плодів дерену справжнього, екстракт жовтих плодів дерену та логанову кислоту відповідно. Усі екстракти вводили тваринам перорально впродовж 14 днів, починаючи з десятого дня після індукції ЦД. Дозування становило 20 мг/кг маси тіла [7,8].

В останній день експерименту щурів усіх дослідних груп декапітували під ефірним наркозом і брали зразки крові.

Під час роботи використали екстракти плодів дерену справжнього сорту «Podolski» (BDPA 10462), стиглі плоди якого мають червоне забарвлення; сорти «Yantarnyi» (BDPA 14131) і «Flava» (BDPA 8795), стиглі плоди яких мають жовте забарвлення [7]. Логанову кислоту екстрагували з жовтих плодів дерену сортів «Yantarnyi» і «Flava» [8].

Для запобігання коагуляції кров забирали із додаванням гепарину у співвідношенні 1 : 100 (гепарин : кров). Для розділення й отримання еритроцитарної маси кров в об'ємі 2 мл піддавали центрифугуванню впродовж 15 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Еритроцити тричі промивали холодним (+4 °C) фосфатно-сольовим буфером (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 10 мМ Na₂HPO₄ × 7H₂O, 1,8 мМ KH₂PO₄; рН 7,4). Для гемолізу еритроцитів використовували дистильовану воду у співвідношенні 1 : 3.

Вміст NO₂⁻ та NO₃⁻ визначали у гемолізатах еритроцитів крові щурів після депротейнізування 96 % етанолом із подальшим центрифугуванням (5000 об/хв, 20 хв, +20 °C). Для визначення вмісту нітрат-аніонів у лунки мікропланшетів додавали по 70 мкл отриманого супернатанту, 70 мкл 50 мМ VCl₃ (для відновлення NO₃⁻ до NO₂⁻), розчиненого в 1 М HCl, і 70 мкл реактиву Грісса (0,05 % N-(1-нафтил)-етилендіамін та 1 % сульфаніламід у 12 % оцтової кислоті у співвідношенні 1 : 1). Для визначення вмісту нітрит-аніонів – 100 мкл супернатанту та 100 мкл реактиву Грісса. Отримані зразки інкубували за температури +37 °C впродовж 30 хв і за допомогою спектрофотометра (Epoch, Biotek, США) вимірювали оптичну густина за λ = 540 нм. Для обчислення результатів вимірювань використали калібрувальні криві, побудовані на основі стандартних розчинів NaNO₂ і NaNO₃ відповідно [12]. Результати наведено в пікомольх на міліграм білка (пмоль/мг білка). Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [13].

Для визначення активності NO-синтази (NOS) до зразків додавали інкубаційну суміш (10 мМ HEPES буфер із 1 М MgCl₂, 1 М CaCl₂, 3 мМ L-аргініном, 0,1 мМ НАДФН). Реакцію в зразках зупиняли після 30 хв інкубації за +37 °C, додавши 96 % етанол у співвідношенні 1 : 3, та центрифугували 20 хв зі швидкістю 5000 об/хв і за температури +20 °C. Для підготовки аналітичних проб 100 мкл отриманого супернатанту та 100 мкл реактиву Грісса вносили у лунки мікропланшетів. Після цього суміш інкубували 30 хв за +37 °C та вимірювали оптичну густина за λ = 540 нм. Активність NOS виражали в пмоль новоутвореного NO₂⁻ за 1 хв у розрахунок на 1 мг білка.

Для визначення активності індуцибельної NOS (iNOS) використовували схожий метод (для вимірювання активності Ca²⁺-незалежної NOS до інкубаційної суміші додавали 1 М ЕДТА замість 1 М CaCl₂). Для визначення активності конститутивної NOS (eNOS) віднімали активність iNOS від загальної активності NOS [14,15].

Основні статистичні показники обчислили на основі прямих кількісних даних, отриманих під час досліджень. Для оцінювання вірогідності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних наборів даних користувалися однофакторним дисперсійним аналізом (ANOVA 1), аналіз здійснили за допомогою програми Microsoft Excel 2023. Дані наведено як середні значення (M) ± стандартне відхилення (m). Різницю між групами вважали статистично значущою, якщо значення p ≥ 0,95 (рівень значущості p < 0,05), обраховане в програмі StatPlus.

Результати

Встановили, що в еритроцитах щурів із ЦД активність NOS (сумарна) зросла у 2,9 раза порівняно з контрольною групою тварин (рис. 1). У діабетичних тварин, які перорально отримували екстракти плодів дерену справжнього, активність NOS в еритроцитах знижувалася. У разі введення екстракту червоних плодів зафіксовано зниження в 3,4 раза, жовтих плодів – вдвічі, логанової кислоти – втричі порівняно зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (рис. 1).

При впливі екстрактів на активність ізоформ NOS спостерігали зниження активності iNOS у 3,3 раза, eNOS – у 3,6 раза в щурів із діабетом, яким перорально вводили екстракт червоних плодів дерену, порівняно з тваринами з ЦД (рис. 1). Екстракт жовтих плодів також зумовлював достовірне зниження активності iNOS та eNOS у 2,7 та 1,6 раза відповідно в еритроцитах щурів порівняно з групою ЦД (рис. 1). У щурів із діабетом, яким вводили логанову кислоту, визначили вірогідне зниження активності iNOS та eNOS в еритроцитах у 1,8 та 5,2 раза відповідно порівняно з групою ЦД (рис. 1).

За діабету підвищується концентрація стабільних метаболітів оксиду нітрогену – аніонів NO₂⁻ та NO₃⁻ в еритроцитах (у 1,8 і 1,6 раза відповідно) порівняно з контрольною групою (загальне збільшення рівня метаболітів оксиду нітрогену (NOx) – у 1,6 раза, рис. 2). Введення екстракту червоних плодів дерену щурам із діабетом призвело до зниження в еритроцитах вмісту аніонів NO₂⁻ (у 2,1 раза) та NO₃⁻ (в 1,3 раза), загального зниження рівня метаболітів NOx (в 1,3 раза) порівняно з групою щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД (рис. 2). Водночас у щурів, яким вводили екстракт жовтих плодів дерену, виявлено зниження вмісту аніонів NO₃⁻ на фоні зростання концентрації NO₂⁻ порівняно з групою щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (рис. 2). Такі самі зміни виявлено і в разі впливу логанової кислоти – збільшення вмісту аніонів NO₂⁻, зменшення вмісту аніонів NO₃⁻ (у 2,0 раза) і зниження рівня NOx (у 1,9 раза) (рис. 2).

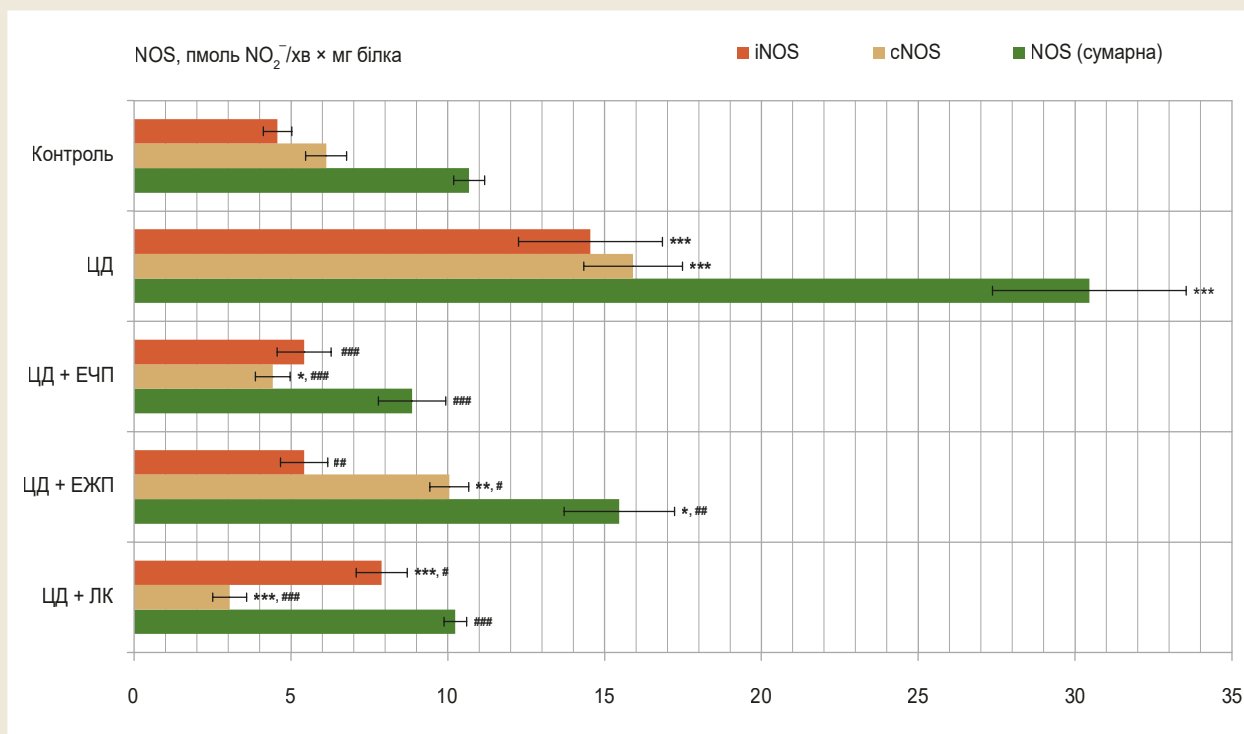


Рис. 1. Вплив екстрактів червоних (ЕЧП) і жовтих (ЕЖП) плодів дерену справжнього та логанової кислоти (ЛК) на активність NO-синтази (NOS) еритроцитів периферичної крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом ($M \pm m$, $n = 6-10$).

*: $p \geq 0,95$; **: $p \geq 0,99$; ***: $p \geq 0,999$ – різниця достовірна порівняно з контрольною групою тварин;
#: $p \geq 0,95$; ##: $p \geq 0,99$; ###: $p \geq 0,999$ – різниця вірогідна порівняно з діабетичною групою тварин.

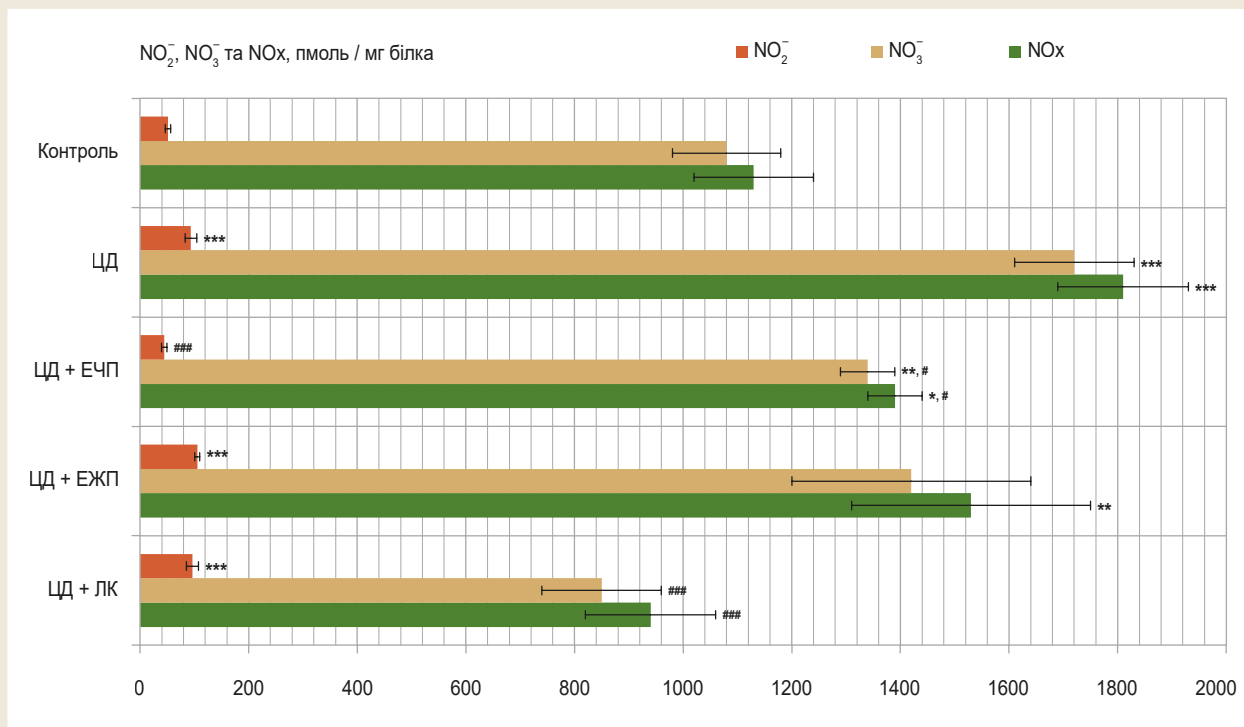


Рис. 2. Вміст стабільних метаболітів NO в еритроцитах крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД за введення екстрактів червоних (ЕЧП) і жовтих (ЕЖП) плодів дерену справжнього та логанової кислоти (ЛК).

*: $p \geq 0,95$; **: $p \geq 0,99$; ***: $p \geq 0,999$ – різниця достовірна порівняно з контрольною групою тварин;
#: $p \geq 0,95$; ##: $p \geq 0,99$; ###: $p \geq 0,999$ – різниця вірогідна порівняно з діабетичною групою тварин.

Обговорення

Дослідили й проаналізували вплив екстрактів плодів різних сортів дерену на загальну активність NOS, а також на активність її конститутивної та індукційної ізоформ в еритроцитах щурів (рис. 1). Встановлено, що активність NOS в еритроцитах за діабетупідвищується, що зумовлено розвитком оксидативно-карбонільного стресу на рівні організму [3]. У всіх групах діабетичних тварин, що перорально отримували екстракти плодів різних сортів дерену справжнього, виявлено достовірне зниження активності NOS в еритроцитах. Екстракт червоних плодів дерену справжнього мав найкращий ефект серед досліджених екстрактів щодо нормалізації активності NOS. Така дія може бути зумовлена вмістом великої кількості антоціанів та, безумовно, комплексним впливом всіх інших компонентів екстракту [7,10]. В екстракті жовтих плодів немає антоціанів, але є більша кількість іридоїдів і більше флавонолів порівняно з червоними плодами [7]. Можливо, саме значний вміст іридоїдів і флавонолів зумовив сильніший ефект щодо зниження активності iNOS, ніж eNOS. Варто звернути увагу, що у разі введення екстракту жовтих плодів дерену справжнього діабетичним тваринам активність eNOS в еритроцитах підвищується порівняно з контрольною групою тварин. Високий вміст флавонолів міг спричинити такі зміни, адже відомо, що флавоноли активують eNOS на рівні посттрансляційної модифікації способом фосфорилування через шляхи мітоген-активованих протеїназ у клітинах, індукованих глюкозою [16]. Здійснили порівняльний аналіз зміни активності ізоформ NOS у групі тварин, яким вводили логанову кислоту, із контрольною групою тварин. Встановили, що активність iNOS не знижувалася до значень у контролі ($p \geq 0,999$), а активність eNOS нижча за контрольні показники ($p \geq 0,999$).

Отже, введення екстрактів плодів різних сортів дерену має позитивний вплив на активність NOS в еритроцитах крові щурів зі стрептозоточин-індукованим ЦД. Найвираженіший ефект щодо нормалізації досліджених показників мав екстракт червоних плодів дерену справжнього. Позитивний ефект щодо пригнічення нітративного стресу властивий екстракту жовтих плодів *S. mas*. Про це свідчить зниження активності індукційної ізоформи NOS до значень у контрольній групі тварин. Логанова кислота, навпаки, найбільше інгібувала конститутивну ізоформу NOS.

Основним стабільним метаболітом NO в еритроцитах зазвичай є NO_3^- . Виявлене підвищення концентрації нітрит- і нітрат-аніонів в еритроцитах за діабету є наслідком підвищення активності NOS та дисфункції ендотелію, що є типовою для цієї ендокринної патології. З іншого боку, NO_2^- може бути продуктом внутрішньоеритроцитарного метаболізму NO_3^- , і його концентрація теж варіює залежно від біохімічних змін, що відбуваються на різних етапах розвитку діабету [3]. За ЦД збільшення вмісту NO_2^- та NO_3^- зумовлене також інтенсивним окисненням оксиду нітрогену. Ці зміни пов'язані з різними аспектами патології ендотелію й

оксидативного стресу, що характерні для діабету. Крім того, значний вплив на синтез NO має асиметричний диметиларгінін, що змінює вміст NO_2^- і NO_3^- в еритроцитах під час діабету [3,17].

В еритроцитах щурів зі стрептозоточинним діабетом, яким вводили екстракт червоних плодів дерену справжнього, вміст нітрит- і нітрат-аніонів достовірно знижується. Результати дослідження дали змогу встановити: екстракт червоних плодів дерену може коригувати вміст метаболітів NO в еритроцитах за діабету завдяки наявності в цих плодах антоціанів, іридоїдів і флавонолів. Ці біологічно активні речовини прямо (безпосередньо зв'язують вільні радикали [10]) та опосередковано (антигіперглікемічний та антиоксидантний ефекти досліджених екстрактів [7,8,10]) впливають на реакції перетворення метаболітів, що вивчали [18].

У щурів зі стрептозоточин-індукованим діабетом, яким впродовж 14 днів перорально вводили екстракт жовтих плодів дерену та логанову кислоту, вміст NO_3^- зменшувався порівняно з діабетичними тваринами, проте концентрація NO_2^- підвищувалася порівняно з контролем. Оскільки обидва екстракти у значній кількості містять іридоїди, можливо, саме вони насамперед впливають на рівень метаболітів NO в еритроцитах. Одержані результати дають підстави стверджувати, що в разі введення екстрактів плодів дерену справжнього відбуваються зміни вмісту стабільних метаболітів NO.

Висновки

1. Активність NO-синтази в еритроцитах знижується у всіх дослідних групах тварин, яким вводили екстракти плодів різних сортів дерену. Найбільш виражені ефекти мав екстракт червоних плодів дерену справжнього, нижчою ефективністю характеризувався екстракт жовтих плодів *Cornus mas* L. Логанова кислота найбільше впливала на зниження активності конститутивної ізоформи NOS.

2. Екстракт червоних плодів дерену знижує рівень стабільних метаболітів NO в еритроцитах, а екстракт жовтих плодів дерену та логанова кислота знижують рівень лише NO_3^- в еритроцитах щурів із цукровим діабетом.

3. Нормалізація біомаркерів нітративного стресу в еритроцитах крові щурів зі стрептозоточин-індукованим діабетом вказує на антиоксидантні властивості екстрактів плодів дерену справжнього, зокрема сорту «Podolski», стиглі плоди якого містять значну кількість антоціанів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Бродяк І. В., канд. біол. наук, доцент каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-1157-2349

Мороз А. А., аспірантка 2 року денної форми навчання, каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-5313-6778

Кучарська А. З., д-р біол. наук, професор каф. фруктових, овочевих та рослинних nutriцевичних технологій, Вроцлавський університет природничих наук, Польща.

ORCID ID: 0000-0002-2172-0408

Сибірна Н. О., д-р біол. наук, професор, зав. каф. біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9217-3931

Information about the authors:

Brodyak I. V., PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

Moroz A. A., PhD-student of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

Kucharska A. Z., PhD, DSc, Professor, Department of Fruit, Vegetable and Plant Nutraceutical Technology, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Poland.

Sybirna N. O., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Biochemistry, Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine.

References

- Bryk AH, Wisniewski JR. Quantitative analysis of human red blood cell proteome. *J Proteome Res.* 2017;16(8):2752-61. doi: [10.1021/acs.jproteome.7b00025](https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00025)
- Cortese-Krott MM, Kelm M. Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function? *Redox Biol.* 2014;2:251-8. doi: [10.1016/j.redox.2013.12.027](https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.027)
- Gajecki D, Gawryś J, Szahidewicz-Krupska E, Doroszko A. Role of erythrocytes in nitric oxide metabolism and paracrine regulation of endothelial function. *Antioxidants.* 2022;11(5):943. doi: [10.3390/antiox11050943](https://doi.org/10.3390/antiox11050943)
- Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Erythrocytes and vascular function: oxygen and nitric oxide. *Front Physiol.* 2018;9:125. doi: [10.3389/fphys.2018.00125](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00125)
- Yang J, Zheng X, Mahdi A, Zhou Z, Tratsiakovich Y, Jiao T, et al. Red blood cells in type 2 diabetes impair cardiac post-ischemic Recovery through an arginase-dependent modulation of nitric oxide synthase and reactive oxygen species. *JACC Basic Transl Sci.* 2018;3(4):450-63. doi: [10.1016/j.jacbs.2018.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jacbs.2018.03.006)
- Jasenovec T, Radosinska D, Kollarova M, Balis P, Ferenczyova K, Kalocayova B, et al. Beneficial effect of quercetin on erythrocyte properties in type 2 diabetic rats. *Molecules.* 2021;26:4868. doi: [10.3390/molecules26164868](https://doi.org/10.3390/molecules26164868)
- Dzydzan O, Bila I, Kucharska AZ, Brodyak I, Sybirna N. Antidiabetic effects of extracts of red and yellow fruits of cornelian cherries (*Cornus mas* L.) on rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Food Funct.* 2019;10(10):6459-72. doi: [10.1039/C9FO00515C](https://doi.org/10.1039/C9FO00515C)
- Dzydzan O, Brodyak I, Sokół-Łętowska A, Kucharska AZ, Sybirna N. Loganic Acid, an Iridoid Glycoside Extracted from *Cornus mas* L. Fruits, Reduces of Carbonyl/Oxidative Stress Biomarkers in Plasma and Restores Antioxidant Balance in Leukocytes of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus. *Life (Basel).* 2020;10(12):349. doi: [10.3390/life10120349](https://doi.org/10.3390/life10120349)
- Seniv MB, Dzydzan OV, Brodyak IV, Kucharska AZ, Sybirna NO. Antioxidant effect of extract of yellow fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in rats' leukocytes under streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Studia Biologica.* 2021;15(1):15-26. doi: [10.30970/sbi.1501.645](https://doi.org/10.30970/sbi.1501.645)
- Dzydzan O, Brodyak I, Strugała-Danak P, Strach A, Kucharska AZ, Gabrielska J, et al. Biological activity of extracts of red and yellow fruits of *Cornus mas* L. – an in vitro evaluation of antioxidant activity, inhibitory activity against α -glucosidase, acetylcholinesterase, and binding capacity to human serum albumin. *Molecules.* 2022;27:2244. doi: [10.3390/molecules27072244](https://doi.org/10.3390/molecules27072244)
- Xu D, Hu M-J, Wang Y-Q, Cui Y-L. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules.* 2019;24(6):1123. doi: [10.3390/molecules24061123](https://doi.org/10.3390/molecules24061123)
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 2001;5(1):62-71. doi: [10.1006/niox.2000.0319](https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319)
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chemistry.* 1951;193(1):265-75.
- Ferents IV, Brodyak IV, MY, Burda VA, Fedorovych AM, Sybirna NO. [The effect of agmatine on L-arginine metabolism in erythrocytes under streptozotocin-induced diabetes in rats]. *Ukr Biochem J.* 2012;84(3):55-62. Ukrainian. Available from: http://ua.ukrbiochem-journal.org/wp-content/uploads/sites/3/2016/04/Ferents_84_3.pdf
- Dawson J, Knowles RG. A microtiter-plate assay of human NOS isoforms. *Methods Mol Biology.* 1998;100:237-42. doi: [10.1385/1-59259-749-1:237](https://doi.org/10.1385/1-59259-749-1:237)
- Kim CE, Han S, Kim MH, Kim S-W. Flavonoids activate endothelial nitric oxide synthase by altering their phosphorylation via mitogen-activated protein kinase pathways in glucose-induced endothelial cells. *J Functional Foods.* 2015;17:676-84. doi: [10.1016/j.jff.2015.06.038](https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.038)
- Öztürk Z. Diabetes, oxidative stress and endothelial dysfunction. *Bezmialem Science.* 2019;7(1):52-7. doi: [10.14235/bas.galenos.2017.2145](https://doi.org/10.14235/bas.galenos.2017.2145)
- Klymenko S, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Piórecki N, Przybylska D, Grygorieva O. Iridoids, flavonoids, and antioxidant capacity of *Cornus mas*, *C. officinalis*, and *C. mas* × *C. officinalis* Fruits. *Biomolecules.* 2021;11(6):776. doi: [10.3390/biom11060776](https://doi.org/10.3390/biom11060776)



Diagnostic significance of immunological parameters in predicting the development of pneumonia in adult patients with measles

O. V. Riabokon^{ID}*A,E,F, S. O. Bilokobyla^{ID}B,C,D, O. O. Korniienko^{ID}B,E, Yu. Yu. Riabokon^{ID}A,C,E, A. V. Vynokurova^{B,C}

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 is to determine the diagnostic significance of immunological parameters in predicting the development of pneumonia in adult patients with measles.

Material and methods. The study examined 88 patients aged 21 to 55 years diagnosed with measles according to the World Health Organization's criteria (2013). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine IgG levels to the measles virus (Vircell Microbiologists, Spain) and the levels of interferon- γ (IFN- γ) (Invitrogen, Austria). Statistical analysis was conducted using Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J).

Results. According to the results of the study, it was found that upon hospitalization on the 4.8 ± 0.2 day of the disease, 71.6 % of patients were seropositive for IgG to measles virus. The development of measles pneumonia was associated with the lowest level of IgG to measles virus ($p < 0.01$). When the level of IgG to measles virus at hospitalization of adult patients was ≤ 20.26 optical units, the probability of developing measles pneumonia was significant (AUC = 0.650, $p = 0.016$).

In adult patients with measles, the serum IFN- γ level at the height of the disease was higher ($p < 0.05$) than in healthy individuals. Upon hospitalization on the 4.8 ± 0.2 day of the disease, the level of IFN- γ in the setting of pneumonia was the highest ($p < 0.05$), exceeding the corresponding parameter in patients without complications. The level of IFN- γ at hospitalization > 1.90 pg/ml was diagnostic for predicting the likelihood of pneumonia (AUC = 0.643, $p = 0.038$).

The authors present their clinical observation, which demonstrates the informative value of using the established immunological parameters in clinical practice to predict the likelihood of pneumonia in adult patients with measles.

Conclusions. The diagnostic significance of such immunological parameters as IgG to measles virus and IFN- γ in predicting the development of pneumonia in adult patients with measles at the time of hospitalization has been proved. Our clinical observation demonstrates the informativeness of the established prognostic markers.

Keywords: measles, viral infection, pneumonia, postvaccination antibodies, cytokines, diagnostics, prognosis.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):160-168

Діагностичне значення імунологічних параметрів у прогнозуванні розвитку пневмонії у хворих на кір дорослих

О. В. Рябоконт, С. О. Білокобила, О. О. Корнієнко, Ю. Ю. Рябоконт, А. В. Винокурова

Мета роботи – з'ясувати діагностичну значущість імунологічних параметрів у прогнозуванні розвитку пневмонії в дорослих, хворих на кір.

Матеріали і методи. Обстежили 88 хворих на кір віком від 21 до 55 років. Діагноз кору встановлювали за критеріями Всесвітньої організації охорони здоров'я (2013). Імуноферментним методом у сироватці крові визначали IgG до вірусу кору (Vircell Microbiologists, Spain) та рівень інтерферону- γ (IFN- γ) (Invitrogen, Austria). Статистично дані опрацювали в програмі Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J).

Результати. У результаті дослідження встановили, що під час госпіталізації на $4,8 \pm 0,2$ дня захворювання 71,6 % хворих були серопозитивними за наявності IgG до вірусу кору. Розвиток корової пневмонії асоціювався з найнижчим рівнем IgG до вірусу кору ($p < 0,01$). Якщо вміст IgG до вірусу кору під час госпіталізації дорослих пацієнтів становив $\leq 20,26$ опт. од., імовірність розвитку корової пневмонії значуща (AUC = 0,650, $p = 0,016$).

ARTICLE INFO



UDC 616.915:616.24-002]-053.8-097
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.299489](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299489)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):160-168

Keywords: measles, viral infection, pneumonia, postvaccination antibodies, cytokines, diagnostics, prognosis.

*E-mail: ryabokonzsmu@ukr.net

Received: 06.03.2024 // Revised: 18.03.2024 // Accepted: 02.04.2024

У хворих на кір дорослих вміст IFN- γ у сироватці крові в розпал хвороби вищий ($p < 0,05$), ніж у здорових осіб. Під час госпіталізації на $4,8 \pm 0,2$ дня захворювання рівень IFN- γ при розвитку пневмонії виявився найвищим ($p < 0,05$), перевищував відповідний параметр у хворих без ускладнень. Рівень INF- γ під час госпіталізації $>1,90$ pg/ml мав діагностичне значення для прогнозування ймовірності розвитку пневмонії (AUC = 0,643, $p = 0,038$).

Наведено власне клінічне спостереження, що демонструє інформативність застосування в клінічній практиці встановлених імунологічних параметрів для прогнозування ймовірності розвитку пневмонії у хворих на кір дорослих.

Висновки. Доведено діагностичну значущість таких імунологічних параметрів, як IgG до вірусу кору та IFN- γ у прогнозуванні розвитку пневмонії у дорослих, хворих на кір, під час госпіталізації. Наведене власне клінічне спостереження підтверджує інформативність цих прогностичних маркерів.

Ключові слова: кір, вірусна інфекція, пневмонія, поствакцинальні антитіла, цитокіни, діагностика, прогноз.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 160-168

The introduction of measles vaccination has significantly reduced the incidence of measles [1,2], which has allowed the World Health Organization to set the goal of eliminating measles in the European region [3]. On one hand, increased measles immunization has substantially decreased morbidity and mortality from this infection. On the other hand, the epidemiology of measles in countries with high immunization rates has undergone significant changes [4]. In recent decades, measles has ceased to be solely a childhood infection [4]. Countries with high levels of vaccination and revaccination among children have observed a decline in post-vaccination measles IgG levels in adults. However, the consequences of this phenomenon during the period of measles elimination remain insufficiently understood [5].

In 2017–2018, many countries worldwide experienced an epidemiological deterioration in measles [6,7,8,9,10,11,12]. A notable feature of the recent measles epidemic was the significant prevalence of adult cases. For instance, in Germany, adults constituted 52 % of measles cases [8], in Italy – 73 % [10], and in Belgium – 50 % [11]. This trend was also observed in Asian countries; for example, in Sri Lanka, the proportion of adult patients with measles reached 73.3 % [12].

It is recognized that measles in adults poses a higher risk of complications compared to children [6,13,14]. The most common complication believed to occur is measles pneumonia, although literature reports on its frequency vary considerably [14]. Thus, there is a current need to ascertain the incidence of pneumonia in adult patients with measles.

Understanding the development of measles pneumonia involves not only viral replication but also immunopathogenetic mechanisms, which are still under investigation. The measles virus initially infects alveolar macrophages and dendritic cells in the respiratory tract, then replicates in local lymphatic tissue, and disseminates through viremia [15]. The immunopathogenetic features of measles complications involve the “measles paradox” – the progression of measles with severe immunosuppression even before acute viremia signs disappear [16,17]. On one hand, complications arise from immunosuppression due to viremia progression, while on the other hand, measles virus replication induces lifelong anti-measles immunity [18]. Since the cytokine system governs the functional activity of immune cells, and impaired production of anti-inflammatory cytokines may contribute to direct viral damage to organs and systems [19], assessing

the diagnostic significance of immunological parameters is advisable for predicting measles in adults.

Aim

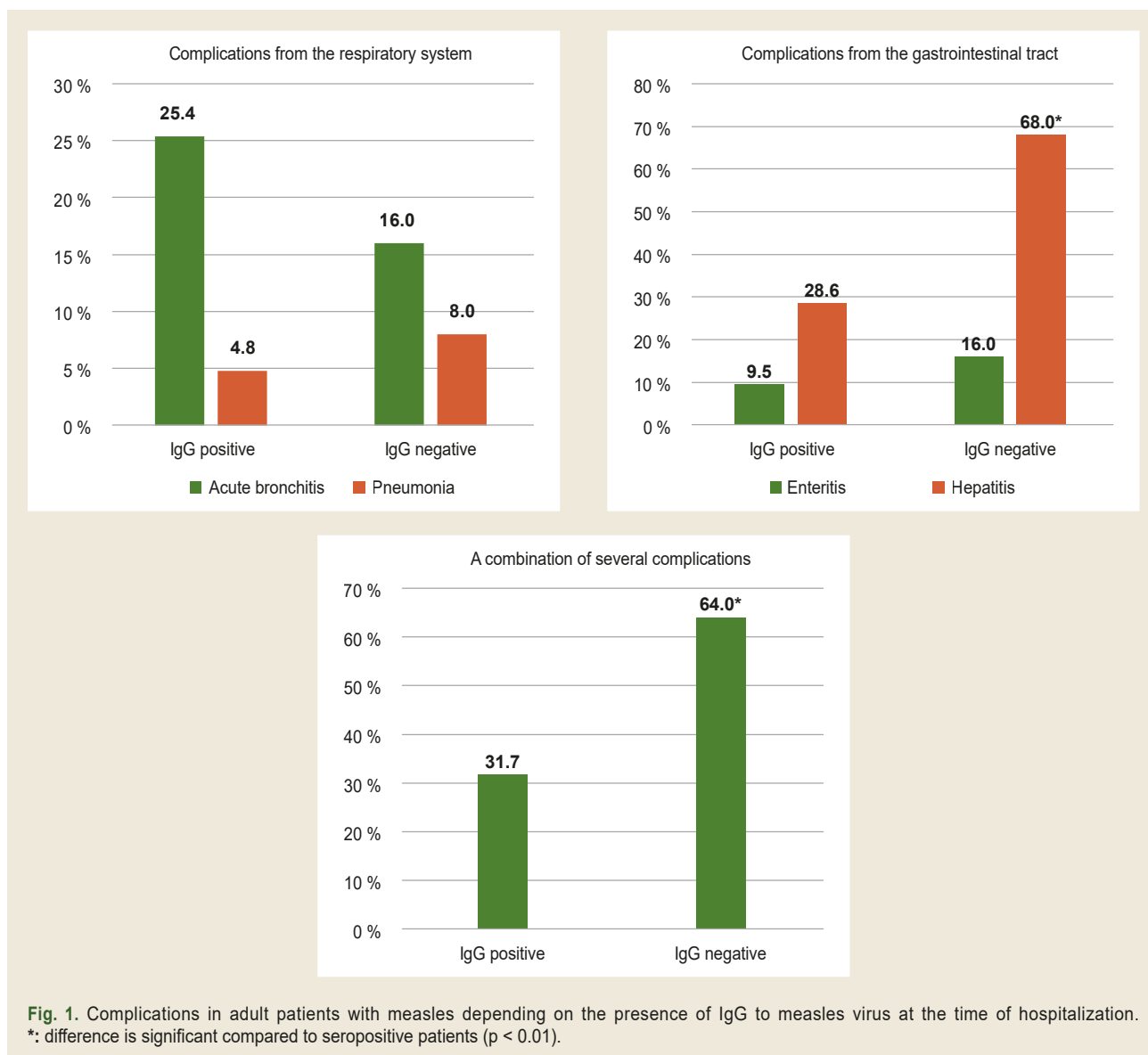
The aim of the study is to determine the diagnostic significance of immunological parameters in predicting the development of pneumonia in adult patients with measles.

Material and methods

The study included 88 patients with measles aged 21 to 55 years who were treated at the Municipal non-profit enterprise “Regional Infectious Diseases Clinical Hospital” of the Zaporizhzhia regional council during 2017–2019. There were 36 men and 52 women. All patients were included in the study on a random basis and with informed consent. The diagnosis of measles was made according to the criteria of the World Health Organization (2013). In the anamnesis, all patients with measles indicated the presence of measles vaccination in childhood, but there was no documentary evidence.

To determine the presence of probable post-vaccination antibodies during hospitalization, serum IgG to measles virus was determined (Vircell Microbiologists, Spain). The serum levels of interferon- γ (IFN- γ) were determined in patients and 20 healthy subjects (Invitrogen, Austria). The studies were conducted by enzyme-linked immunosorbent assay at the Training Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (Head – Doctor of Pharmacy, Associate Professor R. O. Shcherbyna).

Statistical processing of the data was performed using the software Statistica 13 for Windows (StatSoft Inc., No. JPZ804I382130ARCN10-J). The results of quantitative data were presented as median and interquartile ranges Me [Q25; Q75]. The Mann–Whitney test was used to assess the reliability of differences between quantitative characteristics in independent groups, Wilcoxon test in dependent groups, and the χ^2 method for qualitative characteristics. Correlations between quantitative features were determined using Spearman’s correlation (r). ROC analysis was performed to determine the diagnostic significance of the content of IgG to the measles virus and IFN- γ level in predicting the development of pneumonia. Differences at $p < 0.05$ were considered significant.



Results

According to the results of the study, it was found that during the hospitalization of adult patients on an average of 4.8 ± 0.2 days of illness, 63 (71.6 %) patients were seropositive for the presence of IgG to measles virus, and the remaining 25 (28.4 %) were seronegative. Analysis of the spectrum and frequency of complications in adult patients with measles depending on the presence of IgG to measles virus revealed that the incidence of pneumonia has a clear tendency to increase in the setting of seronegativity (1.7 times, $p > 0.05$). However, the incidence of gastrointestinal complications in adult patients with measles was significantly higher in seronegative patients (2.3 times, $\chi^2 = 10.60$, $p < 0.001$), with this pattern also applying to the development of hepatitis (2.4 times, $\chi^2 = 11.61$, $p < 0.001$). It should also be noted that in seronegative patients, in contrast to seropositive patients with IgG to measles virus on 4.8 ± 0.2 day of illness, a combination of several complications was significantly more frequent (2 times, $\chi^2 = 7.70$, $p < 0.01$) (Fig. 1).

To further investigate the protective role of probably postvaccination antibodies in adult measles patients in the development of pneumonia, we compared their quantitative content at the time of hospitalization depending on the further development of pneumonia. Among the seropositive patients, the lowest level of IgG to measles virus occurred in patients with the development of measles pneumonia and was 16.80 [14.68; 20.26] units against 23.58 [21.87; 26.78] optical units in patients without complications ($p = 0.0002$). According to the results of the ROC-analysis, the diagnostic value of this parameter on 4.8 ± 0.2 day of illness was established for predicting the development of pneumonia. For instance, when the content of IgG to measles virus during hospitalization of adult patients was ≤ 20.26 optical units (AUC = 0.650; sensitivity – 92.3 %, specificity – 52.0 %), the probability of developing measles pneumonia was significant ($p = 0.016$) (Fig. 2).

In the next part of the work, we compared the level of IFN- γ in the blood serum of adult patients with measles in the dynamics

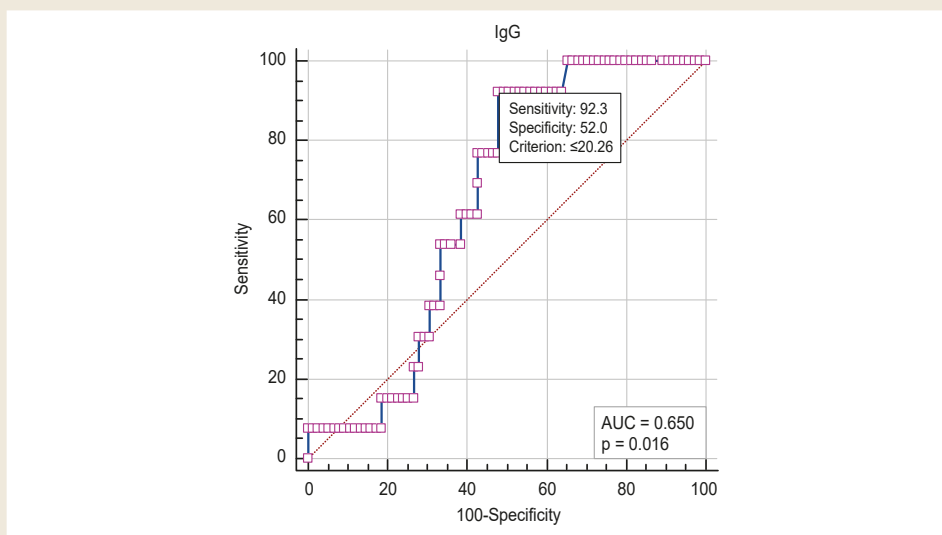


Fig. 2. Prediction of the probability of out-of-hospital pneumonia based on the level of IgG to measles virus in adult patients during hospitalization.

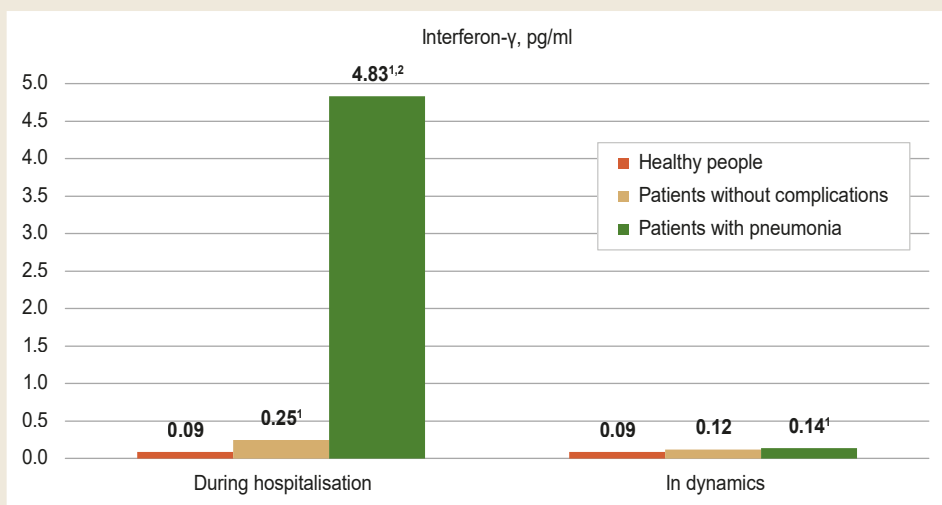


Fig. 3. Comparison of serum IFN- γ levels in adult patients with measles in the dynamics of the disease depending on the development of pneumonia. 1: the difference is significant compared to healthy people ($p < 0.05$); 2: compared to patients without complications ($p < 0.05$).

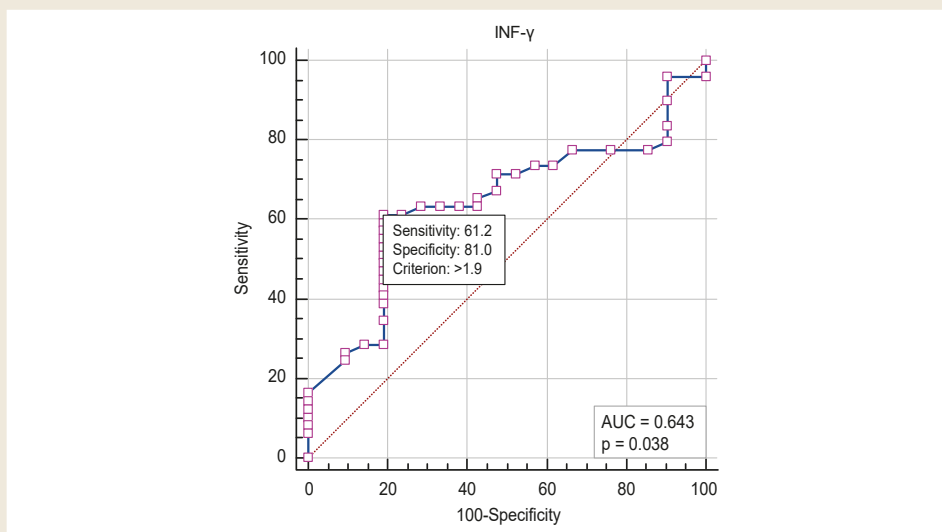


Fig. 4. The likelihood of pneumonia development prediction by the level of INF- γ in the blood serum of adult patients at hospital admission.

of the disease depending on the development of pneumonia. The level of IFN- γ during hospitalization was higher than in healthy people, regardless of the development of pneumonia ($p < 0.05$). It should be noted that in the setting of pneumonia, the level of IFN- γ was the highest and significantly higher than in healthy people and patients with measles without complications, namely, 4.83 [0.29; 12.86] pg/ml as compared to 0.09 [0.08; 0.20] pg/ml and 0.25 [0.13; 1.14] pg/ml, respectively. In the dynamics of 7–10 days of treatment in patients without complications, the level of IFN- γ in the serum of adult patients with measles normalised ($p > 0.05$) and amounted to 0.12 [0.08; 0.24] pg/ml, in contrast to the level of IFN- γ in patients with pneumonia, which was 0.14 [0.08; 0.58] pg/ml and remained higher compared to healthy people ($p < 0.05$) (Fig. 3).

According to the results of ROC analysis, the cut-off level of increase in serum INF- γ , which is diagnostic for predicting the development of pneumonia, was determined. It was found that with an increase in the level of INF- $\gamma > 1.90$ pg/ml, the probability of developing pneumonia is significant (AUC = 0.643, $p = 0.038$; sensitivity – 61.2 %, specificity – 81.0 %) (Fig. 4).

The correlations of the studied immunological parameters with laboratory parameters were established, which indicate both the severity of the disease and the formation of complications. The level of IgG to the measles virus in the blood serum correlated with the following parameters: platelets ($r = +0.32$, $p < 0.05$), lymphocytes ($r = +0.46$, $p < 0.05$), alanine aminotransferase activity ($r = -0.45$, $p < 0.05$), and rods cells ($r = -0.36$, $p < 0.05$). The level of INF- γ correlated with the level of rods ($r = 0.38$, $p < 0.001$), segmented leukocytes ($r = -0.32$, $p < 0.01$), lymphocytes ($r = 0.31$, $p < 0.01$), and alanine aminotransferase activity ($r = 0.25$, $p < 0.05$).

In the following part of the paper, we present a clinical case that, in our opinion, allows us to demonstrate the features of the development of measles pneumonia in an adult patient and demonstrate the possibility of using the immunological parameters studied to predict the development of pneumonia.

Clinical case. Patient T., 55 years old, was admitted to the Municipal non-profit enterprise “Regional Infectious Diseases Clinical Hospital” of the Zaporizhzhia regional council on 10.01.2019 (on the 7th day of illness) with complaints of fever up to 39.5 °C, severe weakness, shortness of breath at rest, a profuse skin rash, dry hacking cough with pain behind the sternum, and decreased appetite.

From the medical history, it became known that he fell ill on 04.01.2019 with hyperthermia of 40.0 °C, eye pain, dry cough. He took antipyretic drugs on his own, but against the background of persistent fever on 08.01.2019, shortness of breath appeared, on the 6th day of illness a rash on the skin of the face and swelling of the face appeared, on the 7th day of illness a rash on the skin of the trunk and arms appeared, shortness of breath increased. The patient sought medical attention and was hospitalized.

In the history of life: has chronic obstructive pulmonary disease, grade II obesity (body mass index 36.1 kg/m²), type 2 diabetes mellitus. There is no documentary evidence of previous vaccinations.

Epidemiological history: contact with a son who had measles and had laboratory confirmation of measles diagnosis.

On admission, the patient’s condition was critical due to severe signs of intoxication and acute respiratory failure. Body temperature 39.0 °C, tachycardia 112/min, blood pressure 130/70 mmHg, dyspnoea up to 44/min, oxygen saturation 86 % (with the connection of oxygen therapy in mask mode, oxygen saturation was 96 %, dyspnoea decreased to 28/min). The patient was admitted to the intensive care unit for treatment. Consciousness was clear, scleritis and conjunctivitis were pronounced, the face was swollen, and the skin of the face, trunk, and extremities had a bright, plentiful, confluent spotted-papular rash, which in some places had a hemorrhagic component. Oral mucosa with enanthema, positive Filatov–Koplik symptom. Auscultation of breath sounds over the lungs was decreased in the lower parts on both sides, crepitation was heard on the right.

Based on the clinical and anamnestic data during the initial examination of the patient, the diagnosis was made: measles (epidemiologically linked case), rash period, severe course, complicated by out-of-hospital pneumonia.

X-ray examination of 10.01.2019 on the right revealed lung tissue infiltration in the middle lobe projection, which confirmed the development of right-sided middle lobe pneumonia (Fig. 5A).

When interpreting the results of laboratory tests in the general blood analysis, the presence of neutrophilia up to 85 % with an increase in rod-nuclear leukocytes up to 14 %, lymphopenia up to 13 % (abs. $0.78 \times 10^9/l$), thrombocytopenia up to $138 \times 10^9/l$, the appearance of plasma cells up to 3 %, acceleration of erythrocyte sedimentation rate up to 50 mm/h. In the biochemical indicators, there were signs of hypercoagulation with an increase in the levels of the prothrombin index to 107.7 % and fibrinogen to 5.1 g/l; signs of acute kidney damage, namely an increase in urea to 8.2 mmol/l, creatinine to 130.0 $\mu\text{mol/l}$, proteinuria 0.264 g/l; as well as hyperglycemia up to 14.3 mmol/l.

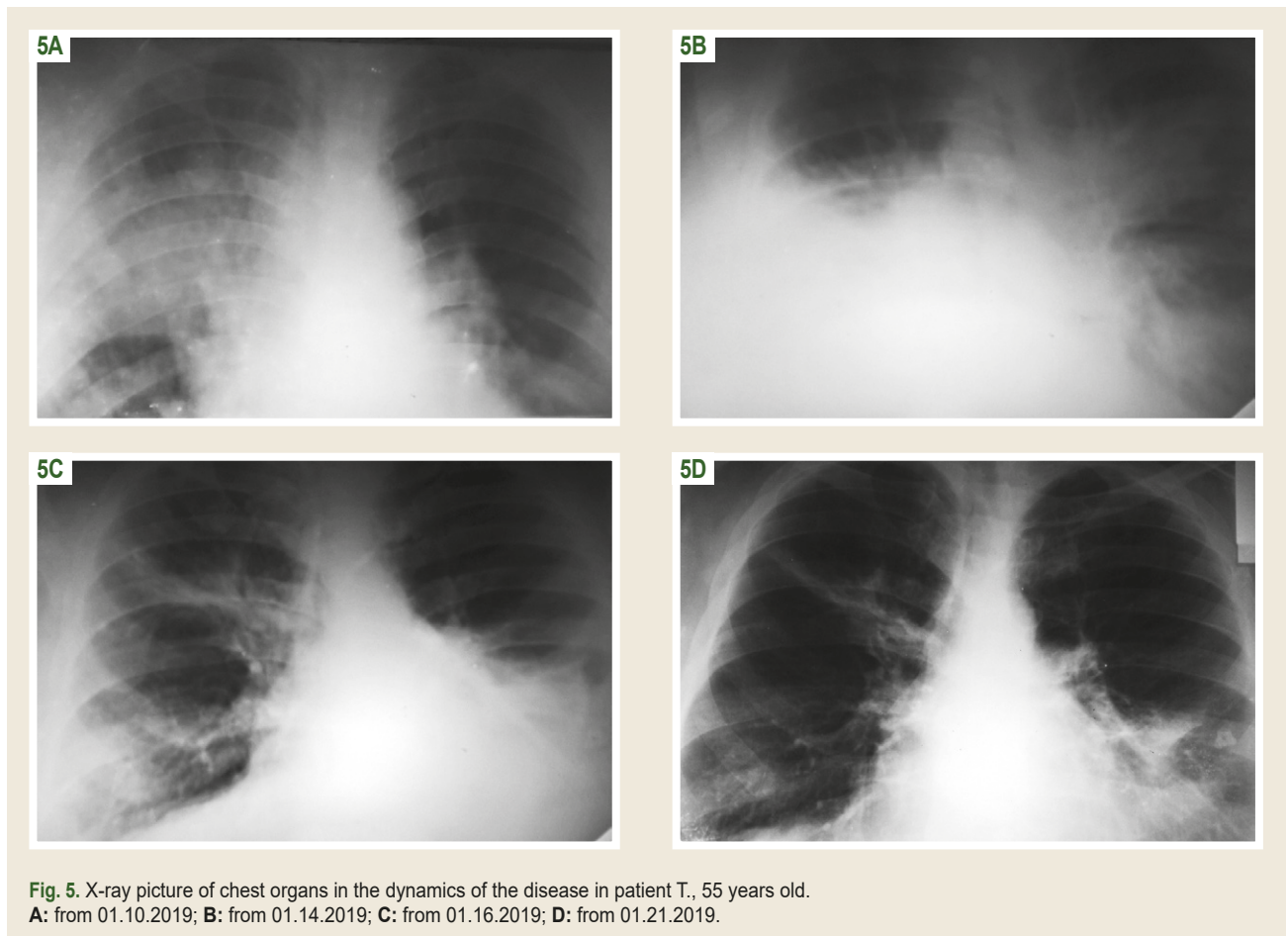
Taking into account weakly positive meningeal symptoms, namely stiffness of the occipital muscles and Kernig’s symptom, a lumbar puncture was performed for diagnostic purposes. In the cerebrospinal fluid, cytosis was 1 cell per mcl, lymphocyte, protein 0.09 g/l, which made it possible to rule out the presence of meningitis.

According to the analysis of the patient’s immunological parameters, which we studied, it was established that at the time of hospitalization, the content of IgG to the measles virus was ≤ 20.26 opt. units, and the level of IFN- $\gamma > 1.82$ pg/ml, which indicated a high probability of developing pneumonia (Table 1).

The treatment was prescribed: oxygen therapy in a mask mode, infusion therapy in the volume of 400.0 ml, antibacterial therapy with ceftriaxone in a dose of 2.0 g twice a day intravenously, low molecular weight heparin in a prophylactic dose of enoxaparin 4000 anti-Xa MO/0.4 ml subcutaneously once per day, ambroxol orally, antipyretic drugs according to indications.

Table 1. The level of IgG to the measles virus and IFN- γ in the blood serum of measles patient T., 55 years old at the time of hospitalization

Indicator, units of measurement	Prediction according to ROC analysis	Patient T., 55 years old
IgG to the measles virus, opt. unit	≤ 20.26	16.64
IFN- γ , pg/ml	> 1.9	12.86



Despite the prescribed treatment, clinical signs of acute respiratory failure persisted during the initial five days, characterized by a respiratory rate of 28–30 breaths per minute and oxygen saturation of 90 % without supplemental oxygen, which increased to 96–97 % with oxygen support. Additionally, there was a persistent low-grade fever, and auscultation of the lungs revealed negative dynamics, including weakening of breath sounds in the lower lung fields and the presence of crepitation bilaterally. Radiologically, beginning on January 14, 2019, there was evidence of increasing infiltration of lung tissue: on the right side, affecting the middle and lower lobes, and on the left side, affecting both lobes, with the roots of the lungs appearing compacted and structureless. Sinuses and mediastinal organs were not visualized. The radiographic findings were consistent with a diagnosis of bilateral polysegmental pneumonia (*Fig. 5B*).

During the laboratory examination on 01.13.2019 negative dynamics were also noted in the general blood analysis due to an increase in the expression of neutrophilia to 80 %, rod-nuclear shift to 21 %, expression of lymphopenia to 6 % (abs.

$0.49 \times 10^9/l$), thrombocytopenia $145 \times 10^9/l$, preservation of plasma cells up to 2 %.

Correction of treatment was carried out on 01.14.2019: combined antibacterial therapy with levofloxacin 500 mg twice a day intravenously and ceftriaxone at a dose of 2.0 g twice a day intravenously, glucocorticosteroids at a dose of 2 mg/kg of body weight under prednisone was prescribed (within three days), an infusion of 10 % immunoglobulin for intravenous administration in a dose of 200.0 ml once was prescribed.

After correction of treatment during 01.14.2019–01.16.2019 clear positive dynamics were obtained: steady normalization of body temperature, since 16.01.2019 oxygen dependence disappeared, oxygen saturation 95–96 % without oxygen support, frequency of respiratory movements 22–24/min, auscultation reduced crepitus, rash on the skin became significantly less bright. From 01.17.2019 the patient was transferred to the department for further treatment.

Research results also clearly demonstrated positive dynamics. Thus, according to the results of an X-ray examination

of the chest organs from 01.16.2019, a decrease in lung tissue infiltration was noted in all parts of the lungs. Conclusion: left-sided lower lobe and right-sided middle lobe and lower lobe pneumonia (*Fig. 5C*).

During the laboratory examination in the general blood test on 01.15.2019, clear positive dynamics were noted due to a significant decrease in the rod-nuclear shift to the left to 7 %, an increase in the level of the relative and absolute number of lymphocytes to 20 % (abs. $0.76 \times 10^9/l$), platelets to $168 \times 10^9/l$. In biochemical indicators, there are no deviations from the reference values.

Against the background of further treatment, clear positive dynamics of clinical, laboratory, and X-ray data remained. During the control X-ray examination on 01.21.2019, a further decrease in lung tissue infiltration was noted, such as signs of infiltration remaining on the left in the lower lobe and on the right in the middle lobe (*Fig. 5D*). The patient was discharged with recommendations for continued treatment in outpatient settings.

As can be seen from the given clinical example, a 55-year-old patient had a severe course of measles, which was complicated by the development of pneumonia. During hospitalization, the results of immunological studies, namely the level of IgG antibodies to the measles virus, were 16.64 opt. unit and an IFN- γ level of 12.86 pg/ml indicated a high risk of developing measles pneumonia. The development and progression of pneumonia during the first five days were characterized by an increase in infiltrative changes in the lung tissue according to X-ray examination data, the appearance of signs of acute respiratory failure of the first degree, inflammatory changes in the general blood test with the presence of a rod-shaped nucleus shift to the left, the appearance of plasma cells, the appearance of signs of hypercoagulation. These changes required the appointment of combined antibacterial therapy, the use of corticosteroids, and anticoagulant therapy.

Discussion

In modern conditions, almost all studies demonstrate the dependence of the frequency of measles complications on the age of patients. It should be noted that the main age groups at risk for a complicated course of measles are children in the first year of life and adults [6,11]. One of the most serious complications of measles is out-of-hospital pneumonia, however, literature data on the frequency of this complication vary significantly [11,20,21]. Thus, under conditions of sporadic measles incidence among adults, a high rate of development of this complication was noted, namely 57 % [14]. During the growth of the morbidity rate, according to various authors, the frequency of pneumonia among hospitalized patients was 15.3–20.6 % [22]. The severity of the course of measles pneumonia in adult patients was demonstrated in the study [23], namely, it was proven that measles was complicated by out-of-hospital pneumonia in 31 % of patients, of which 72 % of patients required oxygen support. During the last epidemic rise in the incidence of measles in Ukraine among military personnel, the development of pneumonia occurred in every fifth patient, despite the mild course of measles [13].

According to the results of our study, among hospitalized adult measles patients, the frequency of pneumonia was 5.7 %. Today, significant differences in the assessment of the frequency of pneumonia in adult measles patients are explained by the use of different imaging methods for its confirmation. The researchers draw attention to the fact that pneumonia in measles patients was suspected in the presence of a weakening of breathing in the lower parts of the lungs in the absence of wheezing, and its confirmation in most cases required not an X-ray examination, but a computer tomography [11]. In our study, only radiographic examination was used to confirm pneumonia, which to some extent may explain the low frequency of this complication in adult measles patients even during the epidemic rise in measles incidence.

In our study, the role of probably post-vaccination IgG to the measles virus in the development of such a complication as pneumonia in adults was determined. Today, the presented literature draws attention to the possibility of developing pneumonia in adults who were previously vaccinated against measles [24,25,26].

Elucidation of the pathogenetic mechanisms of the development of pneumonia in previously vaccinated adults against measles continues [27]. The appearance of foci of inflammation in the lungs is explained by the development of a type III hypersensitivity reaction, when in the process of replication of the measles virus in previously vaccinated patients, rapid production of IgG against the measles virus occurs, a significant number of immune complexes are formed, and foci of inflammation appear in the lungs, which have an immune complex mechanism of development [28]. It is assumed that the immunopathogenetic mechanism of the development of focal measles pneumonia in vaccinated individuals may differ from the mechanism of its development in non-vaccinated individuals [24]. In a number of studies, it has been demonstrated that foci of measles pneumonia in previously vaccinated individuals appear in the acute period of the disease, but subsequently regress for a very long time, from 2 months [26] to 8 months [25]. In addition, primarily in previously vaccinated individuals, measles pneumonia is most often focal and is diagnosed not by radiographic examination, but by computer tomography [24,25,26].

When analyzing modern literature, we paid attention to the attempt of researchers [24] to propose serological prognostic criteria for the development of pneumonia in previously vaccinated individuals. Namely, a ratio of IgG/IgM >20 was proposed, which may be useful for the diagnosis of measles pneumonia [24]. In our study, we managed to establish a cut-off level of IgG to the measles virus ≤ 20.26 opt. units, which gives an idea of the probability of developing measles pneumonia.

Various links to the immunopathological mechanisms of the formation of measles pneumonia continue to be studied today. During the development of measles pneumonia, the inflammatory process is characterized as serous-macrophagic, accompanied by lymphocytic infiltration and vasculitis of small vessels [29].

It is known that IFN- γ is one of the key cytokines responsible for the formation of the Th1 type of immune response

and is involved in the development of systemic and local inflammatory and immunopathological reactions, which causes the appearance of a rash and the clearance of the measles virus [30]. However, the acute phase of measles has a significant feature and differs from the classic reaction, as it is characterized by the formation of leukopenia in combination with a high level of IFN- γ [31,32]. In our study, we established the highest level of IFN- γ under the conditions of the development of measles pneumonia and found out the cut-off level of this cytokine, which allows us to state the probability of the development of this complication in adult measles patients.

Conclusions

1. When hospitalized on the 4.8 ± 0.2 day of illness, 71.6 % of patients are seropositive for the presence of IgG to the measles virus. The development of measles pneumonia is associated with the lowest level of IgG to the measles virus ($p < 0.01$). Under the conditions of IgG content to the measles virus during hospitalization of adult patients ≤ 20.26 opt. units, the probability of developing measles pneumonia is significant ($AUC = 0.650$, $p = 0.016$).

2. In adults with measles, the content of IFN- γ in blood serum at the height of the disease is higher ($p < 0.05$) than in healthy individuals. During hospitalization on the 4.8 ± 0.2 day of the disease, the level of IFN- γ under the conditions of the development of pneumonia is the highest ($p < 0.05$), exceeding the corresponding parameter in patients without complications. The level of INF- γ during hospitalization > 1.90 pg/ml has a diagnostic value for predicting the probability of developing pneumonia ($AUC = 0.643$; $p = 0.038$).

3. The given clinical case demonstrates the informativeness of the application in clinical practice of the immunological parameters established for predicting the probability of developing pneumonia in adult measles patients.

Prospects for further research. In our opinion, taking into account the strategy of the World Health Organization regarding the elimination of measles in the European region, today it remains relevant to clarify the peculiarities of immunological parameters, in particular cellular immunity, in predicting the course of measles in adults.

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

Information about the authors:

Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-7394-4649

Bilokobyla S. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-5673-616X

Korniienko O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-5196-7698

Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-2273-8511

Vynokurova A. V., Leading Specialist of Educational and Scientific Medical Laboratory Center with a vivarium, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Рябоконт О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Білокобила С. О., PhD, асистентка каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Корнієнко О. О., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, професор каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Винокурова А. В., провідний фахівець Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Gastañaduy PA, Funk S, Lopman BA, Rota PA, Gambhir M, Grenfell B, et al. Factors Associated With Measles Transmission in the United States During the Postelimination Era. *JAMA Pediatr.* 2020;174(1):56-62. doi: [10.1001/jamapediatrics.2019.4357](https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2019.4357)
- Plans-Rubió P. Are the Objectives Proposed by the WHO for Routine Measles Vaccination Coverage and Population Measles Immunity Sufficient to Achieve Measles Elimination from Europe? *Vaccines (Basel)*. 2020;8(2):218. doi: [10.3390/vaccines8020218](https://doi.org/10.3390/vaccines8020218)
- Gastañaduy PA, Goodson JL, Panagiotakopoulos L, Rota PA, Orenstein WA, Patel M. Measles in the 21st Century: Progress Toward Achieving and Sustaining Elimination. *J Infect Dis.* 2021;224(12 Suppl 2):S420-8. doi: [10.1093/infdis/jjaa793](https://doi.org/10.1093/infdis/jjaa793)
- Hayman DT. Measles vaccination in an increasingly immunized and developed world. *Hum Vaccin Immunother.* 2019;15(1):28-33. doi: [10.1080/21645515.2018.1517074](https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1517074)
- Gidding HF, Quinn HE, Hueston L, Dwyer DE, McIntyre PB. Declining measles antibodies in the era of elimination: Australia's experience. *Vaccine.* 2018;36(4):507-13. doi: [10.1016/j.vaccine.2017.12.002](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.12.002)
- Kramarov S, Yevtushenko V, Kovalyukh I, Kaminska T, Golovach O. [Clinical features of measles in children hospitalized during 2017-2018 outbreak]. *Aktualna infektolohiia.* 2018;6(5):240-5. Ukrainian. doi: [10.22141/2312-413x.6.5.2018.146773](https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.5.2018.146773)
- Georgakopoulou T, Horefti E, Vernardaki A, Pogka V, Gkolfinopoulou K, Triantafyllou E, et al. Ongoing measles outbreak in Greece related to the recent European-wide epidemic. *Epidemiol Infect.* 2018;146(13):1692-8. doi: [10.1017/S0950268818002170](https://doi.org/10.1017/S0950268818002170)
- Saffar H, Khalifelloo M, Saffar MJ, Abdollahi A, Parsaei MR, Ghorbani GR, et al. Measles and rubella serosusceptibility among population vaccinated with different schedules: the potential impact on measles-rubella elimination in Iran. *BMC Infect Dis.* 2021;21(1):305. doi: [10.1186/s12879-021-05970-7](https://doi.org/10.1186/s12879-021-05970-7)
- Werber D, Hoffmann A, Santibanez S, Mankertz A, Sagebiel D. Large measles outbreak introduced by asylum seekers and spread among the insufficiently vaccinated resident population, Berlin, October 2014 to August 2015. *Euro Surveill.* 2017;22(34):30599. doi: [10.2807/1560-7917.ES.2017.22.34.30599](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.34.30599)
- Lancella L, Di Camillo C, Vittucci AC, Boccuzzi E, Bozzola E, Villani A. Measles lessons in an anti-vaccination era: public health is a social duty, not a political option. *Ital J Pediatr.* 2017;43(1):102. doi: [10.1186/s13052-017-0420-6](https://doi.org/10.1186/s13052-017-0420-6)
- Gammens T, Schirvel C, Leenen S, Shodu N, Hutse V, Mendes da Costa E, et al. Ongoing measles outbreak in Wallonia, Belgium, December 2016 to March 2017: characteristics and challenges. *Euro Surveill.* 2017;22(17):30524. doi: [10.2807/1560-7917.ES.2017.22.17.30524](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.17.30524)
- Dahanayaka NJ, Pahalagamage S, Ganegama RM, Weerawansa P, Agampodi SB. The 2013 measles outbreak in Sri Lanka: experience from a rural district and implications for measles elimination goals. *Infect Dis Poverty.* 2015;4:51. doi: [10.1186/s40249-015-0084-7](https://doi.org/10.1186/s40249-015-0084-7)

13. Trykhlіb V, Shchur A, Hrushkevych V, Hryshyn O, Pavlovska M, Musiienko T, et al. [Peculiarities of measles clinical manifestations and course]. *Aktualna infektolohiia*. 2018;6(3):141-52. Ukrainian. doi: [10.22141/2312-413x.6.3.2018.136647](https://doi.org/10.22141/2312-413x.6.3.2018.136647)
14. Premaratna R, Luke N, Perera H, Gunathilake M, Amarasena P, Chandrasena TG. Sporadic cases of adult measles: a research article. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):38. doi: [10.1186/s13104-017-2374-6](https://doi.org/10.1186/s13104-017-2374-6)
15. de Vries RD, Mesman AW, Geijtenbeek TB, Duprex WP, de Swart RL. The pathogenesis of measles. *Curr Opin Virol*. 2012;2(3):248-55. doi: [10.1016/j.coviro.2012.03.005](https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.005)
16. Anelone AJ, Hancock EJ, Klein N, Kim P, Spurgeon SK. Control theory helps to resolve the measles paradox. *R Soc Open Sci*. 2021;8(4):201891. doi: [10.1098/rsos.201891](https://doi.org/10.1098/rsos.201891)
17. Morris SE, Yates AJ, de Swart RL, de Vries RD, Mina MJ, Nelson AN, et al. Modeling the measles paradox reveals the importance of cellular immunity in regulating viral clearance. *PLoS Pathog*. 2018;14(12):e1007493. doi: [10.1371/journal.ppat.1007493](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007493)
18. Laksono BM, de Vries RD, McQuaid S, Duprex WP, de Swart RL. Measles Virus Host Invasion and Pathogenesis. *Viruses*. 2016;8(8):210. doi: [10.3390/v8080210](https://doi.org/10.3390/v8080210)
19. Andreychyn MA, Vasylieva NA, Yosyk YI. [Role of interleukins in pathogenesis of influenza and other acute respiratory viral infections]. *Zhurnal Natsionalnoi akademii medychnykh nauk Ukrainy*. 2015;21(1):122-7. Ukrainian.
20. Ge YL, Zhai XW, Zhu YF, Wang XS, Xia AM, Li YF, et al. Measles Outbreak in Pediatric Hematology and Oncology Patients in Shanghai, 2015. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(11):1320-6. doi: [10.4103/0366-6999.206358](https://doi.org/10.4103/0366-6999.206358)
21. Xu ZW, Chen YP, Yang MJ, Li WC, Liu Q, Lin J. The epidemiological and clinical characteristics of measles in Wenzhou, China, 2000-2010. *Epidemiol Infect*. 2014;142(1):20-7. doi: [10.1017/S0950268813000411](https://doi.org/10.1017/S0950268813000411)
22. Antona D, Lévy-Bruhl D, Baudon C, Freymuth F, Lamy M, Maine C, et al. Measles elimination efforts and 2008-2011 outbreak, France. *Emerg Infect Dis*. 2013;19(3):357-64. doi: [10.3201/eid1903.121360](https://doi.org/10.3201/eid1903.121360)
23. Caseris M, Houhou N, Longuet P, Rioux C, Lepeule R, Choquet C, et al. French 2010-2011 measles outbreak in adults: report from a Parisian teaching hospital. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(4):O242-4. doi: [10.1111/1469-0691.12384](https://doi.org/10.1111/1469-0691.12384)
24. Yu D, Zhang G, Gao L, Xu W, Cao B. High ratio of measles-specific IgG/IgM associated with nodular pneumonia in vaccinated individuals. *Int J Infect Dis*. 2018;76:38-44. doi: [10.1016/j.ijid.2018.08.015](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.08.015)
25. Ohnishi H, Fujiyama R, Tomioka H, Tada K, Sakurai T, Sakamoto H, et al. [Measles pneumonia presenting with multiple nodular opacities on chest radiographs]. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2000;38(5):421-4. Japanese.
26. Pang M, Xu JY, Li P, Han XX, Li MY. [Clinical analysis of 51 cases of atypical measles syndrome characterized by fever and multiple lung lesions]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2008;31(10):731-5. Chinese.
27. Moss WJ. Measles. *Lancet*. 2017;390(10111):2490-502. doi: [10.1016/S0140-6736\(17\)31463-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31463-0)
28. Melenotte C, Cassir N, Tessonnier L, Brouqui P. Atypical measles syndrome in adults: still around. *BMJ Case Rep*. 2015;2015:bcr2015211054. doi: [10.1136/bcr-2015-211054](https://doi.org/10.1136/bcr-2015-211054)
29. Shostakovych-Koretsraya LR, Mavrutenkov VV, Cherhinet AV, Budyayeva IV, Yakunina OM, Chykarenko ZA. Measles (lecture). *Medicini perspektivi*. 2013;18(3):4-15. Ukrainian.
30. Griffin DE. Measles virus-induced suppression of immune responses. *Immunol Rev*. 2010;236:176-89. doi: [10.1111/j.1600-065X.2010.00925.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00925.x)
31. Ten Oever J, Riza A, Sabou M, Cismaru C, Netea MG, Slavcovici A. Characterization of the Acute Inflammatory Response in Measles Infection. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2014;3(3):197-200. doi: [10.1093/jpids/pit082](https://doi.org/10.1093/jpids/pit082)
32. Veklych KA, Popov MM, Liadova TI, Martynenko OV, Sorokina OH, Sarkis-Ivanova VV. [Cytokine profile of patients with the measles infection of varying severity]. *Pathologia*. 2021;18(1):66-71. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1237.2021.1.215491](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.1.215491)



Епідеміологія раку підшлункової залози в Україні та Запорізькій області

М. А. Шишкін *^{A,E,F}, В. О. Кабаченко ^{A,B,C,D,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 – проаналізувати показники захворюваності та смертності від раку підшлункової залози (РПЗ) в Україні та Запорізькому регіоні для висвітлення і порівняння організації онкологічної допомоги, переваг профілактики та ранньої діагностики цієї онкопатології.

Матеріали і методи. Здійснили порівняльний аналіз даних Національного канцер-реєстру України за 2014–2022 рр. Інформацію, яку використали під час дослідження, переглянуто та затверджено Комісією з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (витяг з протоколу від 21.12.2023 р. № 10). Дані проаналізували за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel та прикладної статистичної програми Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., США, ліцензія № JРZ8041382130ARCN10-J).

Результати. Згідно з даними GLOBOCAN (2022), РПЗ посідає 14 місце у світі та 12 в Україні за захворюваністю та є однією з провідних причин смертності. Щороку спостерігають збільшення кількості випадків цієї патології. Показники захворюваності та смертності значно вищі в країнах із високим рівнем розвитку, при цьому за показником виживання такої залежності не виявлено. Смертність від РПЗ в Україні становить 76,9–82,3 %, у Запорізькій області – 86,2–99,5 % із позитивною динамікою. Виявлення ранніх стадій РПЗ в Україні та Запорізькому регіоні перебуває на рівні 26,0–36,4 % і 30,7–43,6 % відповідно; діагностика занедбаних стадій – на рівні 43,8–56,3 % по Україні та 58,6–63,2 % у Запорізькому регіоні. В Україні спеціальним лікуванням охоплено 25,3–31,9 % первинних хворих, регіональний показник – 17,9–26,6 % із позитивною динамікою. Ефективність первинної профілактики РПЗ в Україні сягає 3,3 %, регіональний показник не перевищує 3,0 %.

Висновки. Удосконалення профілактичних заходів, визначення груп ризику розвитку РПЗ, модифікація способу життя є факторами покращення прогнозу та виживаності таких пацієнтів.

Ключові слова: рак підшлункової залози, епідеміологія, захворюваність, смертність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 169-175

Epidemiology of pancreatic cancer in Ukraine and Zaporizhzhia region

M. A. Shyshkin, V. O. Kabachenko

The aim of the work is to analyze the incidence and mortality of pancreatic cancer (PC) in Ukraine and the Zaporizhzhia region to highlight and compare the organization of oncological care, the benefits of prevention, and early diagnosis of this disease.

Materials and methods. The analysis of the data of the National Cancer Registry of Ukraine for 2014–2022 was carried out. The information used in the research was reviewed and approved by the Commission on Bioethics of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, an extract from protocol No. 10 dated 12/21/2023. The data analysis was carried out using Microsoft Excel spreadsheets and the applied statistical program Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., USA, license No. JPZ8041382130ARCN10-J).

Results. According to GLOBOCAN data (2022), RP ranks 14th in the world and 12th in Ukraine in morbidity and is one of the leading causes of mortality. Every year there is an increase in cases of this pathology. Morbidity and mortality rates are significantly higher in countries with a high level of development, while the survival rate does not reveal such a dependence. Mortality from PC in Ukraine is 76.9–82.3 %, in the Zaporizhzhia region 86.2–99.5 % with positive dynamics. Detection of early stages of PC in Ukraine and the Zaporizhzhia region is at the level of 26.0–36.4 %, 30.7–43.6 %, respectively, diagnosis of advanced stages is at the level of 43.8–56.3 % across Ukraine, in the Zaporizhzhia region – 58.6–63.2 %. In Ukraine, 25.3–31.9 % of primary patients are covered by special treatment, the regional indicator is 17.9–26.6 % with positive dynamics. The effectiveness of primary prevention of PC in Ukraine reaches 3.3 %, the regional indicator does not exceed 3.0 %.

ARTICLE INFO



UDC 616.37-006.6-036.22(477)
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.299555](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299555)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):169-175

Keywords: pancreatic neoplasms, epidemiology, morbidity, mortality.

*E-mail: shishkin.stomat@gmail.com

Received: 11.03.2024 // Revised: 15.04.2024 // Accepted: 25.04.2024

Conclusions. Improvement of preventive measures, selection of groups at risk of development of PC, modification of lifestyle are factors for improvement of prognosis and survival of patients with PC.

Keywords: pancreatic neoplasms, epidemiology, morbidity, mortality.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):169-175

Основна проблема охорони здоров'я у всьому світі – рак, який є причиною 21 % усіх смертей чоловіків і жінок та другою основною причиною смерті після хвороб серця [1]. На діагностику та лікування цієї патології негативно вплинула пандемія коронавірусної інфекції (COVID-19) через обмеження доступу до онкологічної допомоги [2,3,4,5]. Крім того, кількісне оцінювання вторинних наслідків пандемії відбувається із затримкою. Так, показники захворюваності на рак і смертності нині доступні до 2018 і 2019 р. [2,3,4,5,6].

Рак підшлункової залози (РПЗ) – рідкісне та дуже агресивне захворювання. РПЗ посідає 14 місце за захворюваністю і 7 місце за смертністю в усьому світі та є сьомою провідною причиною смертності від раку в промислово розвинутих країнах [1,2,3,4,5], і з кожним роком рівень захворюваності зростає. За даними GLOBOCAN (2022), щороку кількість випадків РПЗ збільшується на 0,46 млн і 0,43 млн смертей, що спричинені цією онкопатологією [1,2,3,4,5]. У науковій літературі негативну динаміку щодо РПЗ обґрунтовують зміною способу життя в усьому світі [6].

Проте доступно дуже мало даних про епідеміологію РПЗ. Тенденції розвитку раку є важливим показником зміни структури захворюваності та дають уявлення про можливі причини і фактори, що можуть впливати на онкопатологію. Отже, аналіз епідеміології РПЗ може бути ключем до визначення етіології захворювання та сприятиме розробленню ефективної стратегії профілактики цієї патології.

В Україні з 2002 р. впроваджено загальну реєстрацію всіх випадків онкопатології в Національному канцер-реєстрі. Дані реєстру дають змогу оцінити не тільки динаміку захворюваності, смертності від онкопатології, але й обсяг протиракових заходів, спеціалізованої медичної допомоги.

Мета роботи

Проаналізувати показники захворюваності та смертності від раку підшлункової залози в Україні та Запорізькому регіоні для висвітлення і порівняння організації онкологічної допомоги, переваг профілактики та ранньої діагностики цієї онкопатології.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили порівняльний аналіз даних Національного канцер-реєстру України за 2014–2022 рр. Інформацію, яку використали під час дослідження, переглянуто та затверджено Комісією з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (витяг з протоколу від 21.12.2023 р. № 10). Дані

проаналізували за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel та прикладної статистичної програми Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., США, ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J).

Результати

Дані Національного канцер-реєстру свідчать про непрямолинійне зростання кількості хворих на РПЗ в Україні за 2014–2022 рр. (рис. 1). Так, у 2016 році спостерігали зниження захворюваності на 1,9 %, а в 2017 і 2018 р. визначили зростання на 1,5 % і 2,2 % відповідно. Найнижчий приріст встановили у 2019 р. – 0,6 %, а найвищий показник захворюваності в абсолютних величинах – 4527 випадків. З початком пандемії COVID-19 показники захворюваності на РПЗ різко знизилися порівняно з 2019 р.: на 12,5 % – у 2020 р., на 5,2 % – у 2021 р.; загалом – на 17,1 %. У 2022 році захворюваність зросла на 7,5 %.

У Запорізькому регіоні (рис. 2) пік захворюваності на РПЗ також припав на 2018 рік. Приріст порівняно з попередніми роками становив 9,0 %, що перевищило національний показник. У 2020 році відбулося різке зниження показника захворюваності щодо 2018 року – на 30,3 %; це майже вдвічі вище за відповідний національний показник. На відміну від ситуації загалом в Україні, у регіоні в 2022 році спостерігали зниження захворюваності ще на 23,9 %, що може бути пов'язано з повномасштабними бойовими діями та евакуацією містян.

Відомо, що ризик раку зростає з віком, і РПЗ не є винятком. В Україні та Запорізькому регіоні РПЗ діагностують в осіб віком 30–87 років, найчастіше – після 70 років. При цьому пік захворюваності серед чоловіків припадає на вік 70–74 роки, а серед жінок – 80–84 роки. За аналізований період в Україні чоловіки віком до 60 років хворіють на РПЗ в 2–3 рази частіше за жінок, після 60 років – в 1,1–1,5 рази. У Запорізькій області у 2014–2017 рр. показник захворюваності серед жінок щодо чоловіків зростав від 1,02 до 1,09, а в 2018–2022 рр. чоловіки хворіли в 1,9–2,1 рази частіше.

Смертність від РПЗ в Україні за період 2014–2022 рр. (рис. 3) становила 76,9–82,3 %. Чоловіки помирали на 14,6–19,0 % частіше за жінок.

У Запорізькій області смертність у період 2015–2018 рр. перевищувала національний показник, але поступово знижувалась з 99,5 % у 2015 році до 87,6 % у 2018 р. У 2019 році показник знову зріс до 95,8 %, а в 2020 р. становив 111,2 %; це можна пояснити пізнім зверненням по медичну допомогу, що зумовлено пандемією COVID-19. У 2021 році зафіксовано різке зниження показника смертності до 86,2 %, а в 2022 році зниження показника до 58,7 % можна пояснити повномасштабними

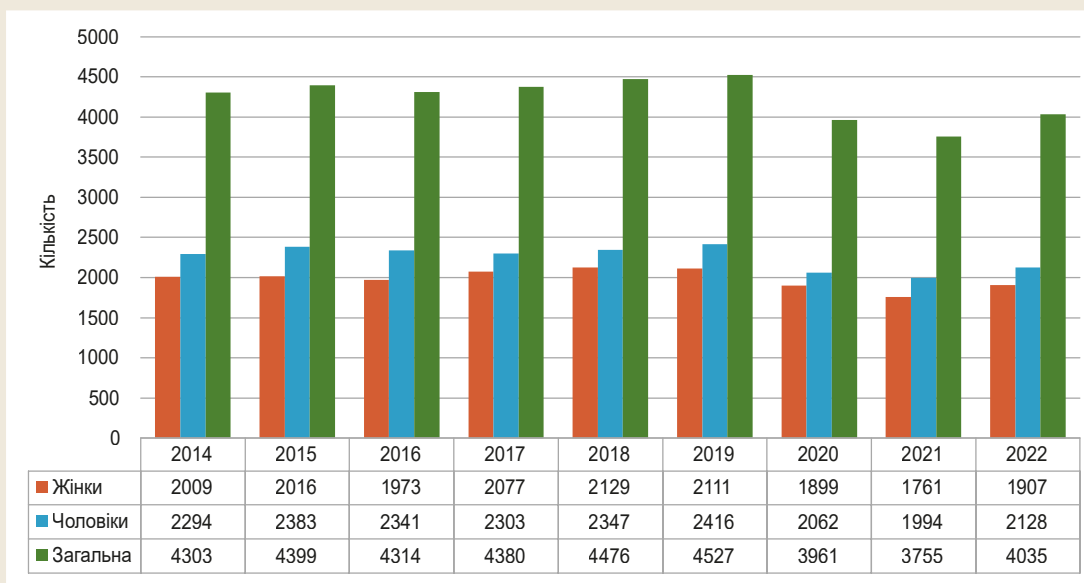


Рис. 1. Статистика захворюваності на злоякісні новоутворення підшлункової залози серед чоловіків і жінок в Україні (2014–2022 рр.).

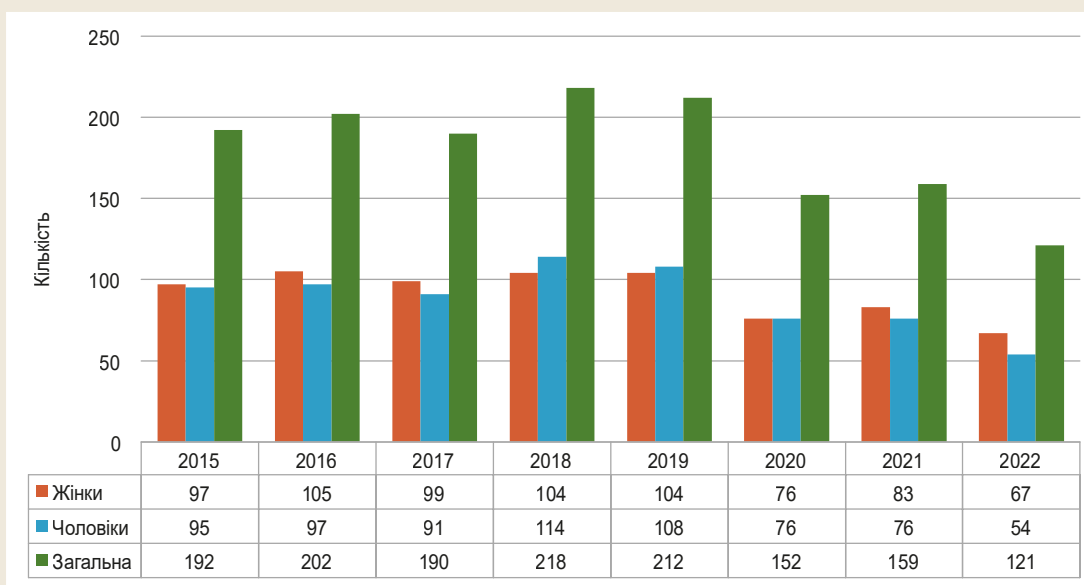


Рис. 2. Статистика захворюваності на злоякісні новоутворення підшлункової залози серед чоловіків і жінок у Запоріжжі та Запорізькій області (2015–2022 рр.).

бойовими діями. У регіоні показник смертності залежно від статі в середньому становив 2,0 з переважанням чоловіків (рис. 4).

Досить високою в Україні залишається смертність впродовж 1 року після виявлення РПЗ, хоча і з тенденцією до зниження – з 75,2 % у 2014 році до 70,2 % у передпандемічному 2019 році. У 2020 і 2021 рр. показник знизився до 66,8 % і 64,0 % відповідно.

У Запорізькому регіоні показники однорічної виживаності за аналізований період є зівставними з даними по країні: 76,1 % – у 2014 році, 73,1 % – у 2019 році. У 2020 р. показник на 3,9 % вищий за національний, а в 2021 році знизився до 58,9 %, що нижче за національний на 5,1 %.

Про труднощі діагностики РПЗ свідчить низький рівень морфологічного підтвердження РПЗ в Україні. Найнижчий рівень зафіксовано у 2016 році – 34,3 % після 39,9 % і 38,1 % у 2014 і 2015 рр. відповідно. У 2017–2019 рр. показник становив 35,9–36,8 %, у 2020 та 2021 рр. він підвищився до 40,1 % і 42,7 % відповідно. У 2022 році цей показник знизився до 39,8 %.

Гістологія відіграє важливу роль у прогнозуванні та виживаності при РПЗ. В Україні гістологічне підтвердження РПЗ становило 29,2–33,7 % із підвищенням показника до 36,1 % і 38,7 % у 2020 і 2021 рр. відповідно. Також позитивним є зменшення кількості невизначених морфологічних типів РПЗ серед верифікованих випадків

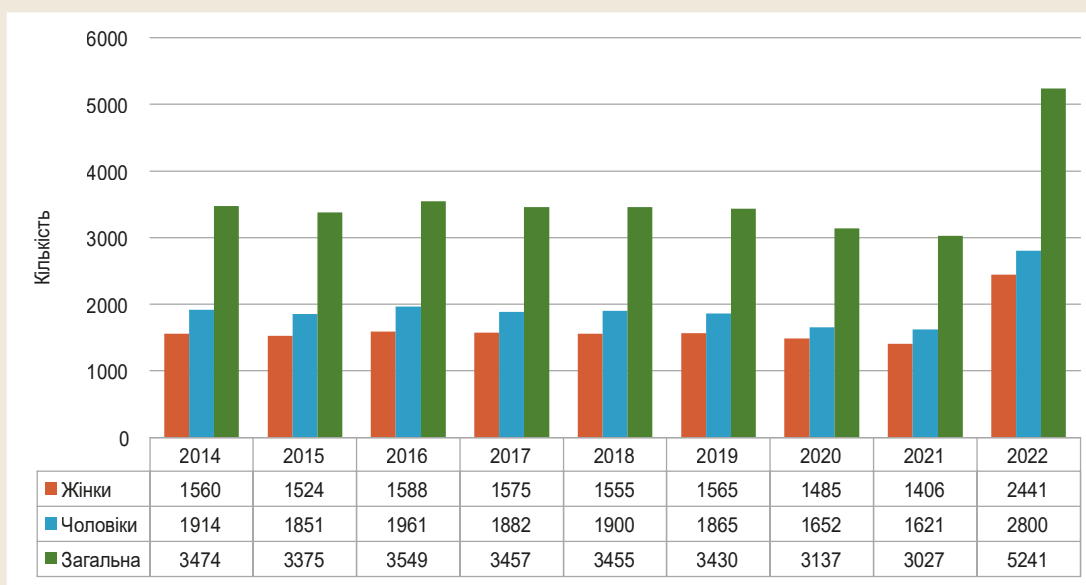


Рис. 3. Статистика смертності від злоякісних новоутворень підшлункової залози серед чоловіків і жінок в Україні (2014–2022 рр.).

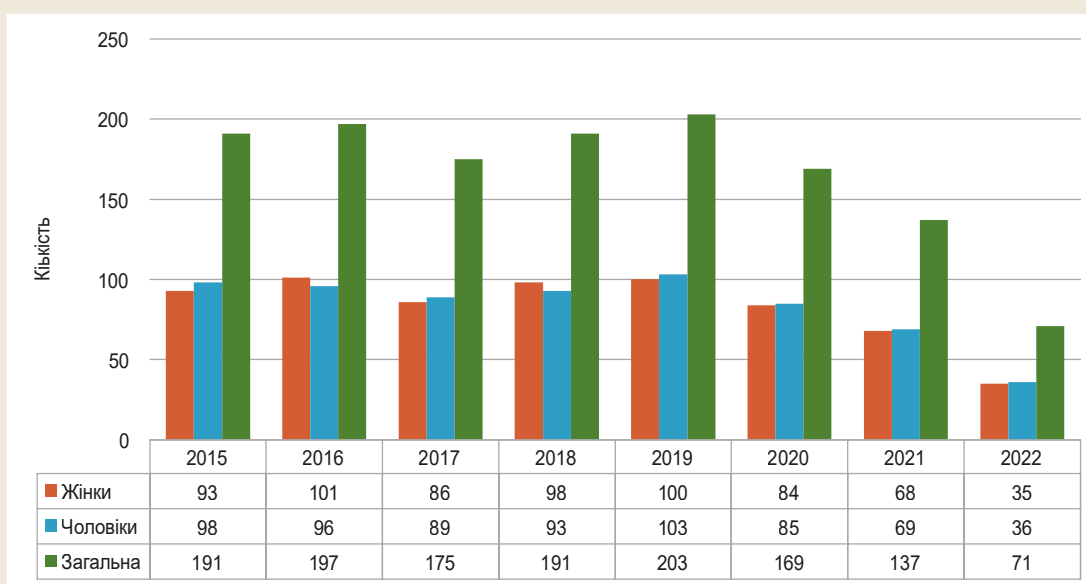


Рис. 4. Статистика смертності від злоякісних новоутворень підшлункової залози серед чоловіків і жінок у Запоріжжі та Запорізькій області (2015–2022 рр.).

з 21,3 % у 2014 році до 13,6 % у 2021 році. У 2022 році встановили підвищення показника до 16,5 %.

У Запорізькому регіоні показник морфологічно підтверджених РПЗ дещо нижчий за національний із негативною тенденцією. У 2015 році цей показник становив 31,8 %, а в наступному році знизився до 25,2 %. Найвищий показник зафіксовано у 2017 році – 35,8 %, після чого поступово знизився до 28,1 % у 2022 році.

РПЗ складно діагностувати на ранніх стадіях. Згідно з даними Національного канцер-реєстру, діагностика ранніх стадій в Україні знизилась з 2015 року на 10,4 %, а саме з 36,4 % до 26,0 % у 2022 році. Натомість на 6,1 % зросла кількість занедбаних стадій. Якщо в 2015 році час-

тота III і IV стадій становила 13,0 % і 33,8 % відповідно, то в 2022 р. III стадія діагностована у 12,8 %, а кількість випадків IV стадії зросла до 43,5 %. Визначили також збільшення випадків діагностики невизначеної стадії РПЗ: з 16,0 % у 2015 р. до 19,1 % у 2021 р. У 2022 р. показник знизився до 16,5 %.

У Запорізькій області, на відміну від України загалом, діагностика ранніх стадій РПЗ зросла на 8,5 % – з 35,1 % у 2015 році до 43,6 % у 2018 році. У 2022 році показник становив 30,7 %; це вище за національний показник на 4,7 %. Показник діагностики III стадії поступово знизився майже втричі – з 15,5 % у 2015 році до 4,4 % у 2022 році, став нижчим за національний майже в 2,5 раза. Кількість

випадків виявлення IV стадії значно зросла з 42,9 % у 2015 році до 58,8 % у 2022 році, перевищуючи показник по країні на 15,3 %. Певне зниження випадків IV стадії до 37,6 % і 38,5 % зафіксовано у 2017 і 2018 роках.

Через відсутність симптоматики РПЗ на ранніх стадіях особливе значення у своєчасній діагностиці має якість здійснення профілактичних оглядів. З 2014 до 2016 року спостерігали позитивну динаміку щодо виявлення РПЗ під час профоглядів з 2,4 %, 2,7 % до 3,3 % відповідно. З 2017 року встановили зниження результативності профоглядів (з 2,8 % до 2,3 %). У роки пандемії ефективність різко знизилась: до 1,5 % у 2020 році і до 1,1 % у 2022. Зазначимо, що в чоловіків, крім 2015 і 2016 рр., РПЗ під час профоглядів виявляли частіше на 0,3–0,8 %. У Запорізькій області кількість діагностованих під час профоглядів випадків РПЗ становила від 0,0 % до 3,0 % без вираженої закономірності.

Залишається низьким відсоток первинних хворих на РПЗ, охоплених спеціальним лікуванням. Зазначимо, що під час пандемії кількість пролікованих пацієнтів не зменшилась, а збільшилась з 25,8–28,7 % у 2014–2019 рр. до 29,7 %, 31,6 % і 31,9 % у 2020, 2021 та 2022 р. відповідно. При цьому знизився показник хірургічної допомоги – з 12,2 % у 2014 році до 7,7 % у 2021 році. У 2020 і 2021 рр. збільшилась кількість пацієнтів, які одержали комплексне та комбіноване лікування, – до 4,7 % і 5,7 % відповідно порівняно з 3,1–3,9 % за період з 2014 до 2019 рр.

У Запорізькому регіоні відсоток пролікованих пацієнтів нижчий, ніж по Україні. З 2015 року спостерігали позитивну динаміку: показник підвищився з 17,9 % до 28,2 % у 2018 році. У 2019 і 2020 р. відсоток пролікованих пацієнтів знизився до 22,9 % і 20,7 % відповідно, в наступний рік зріс до 26,6 %, а в 2022 році зменшився до 21,9 %.

Обговорення

Структура онкологічної захворюваності в Україні збігається зі світовою, і рак підшлункової залози в Україні, як і в усьому світі, залишається досить рідкісним захворюванням та посідає 12 місце з-поміж усіх онкологічних захворювань, у світі – 14 місце [1,2,3,4,5,6].

Проте за рівнем захворюваності та смертності Україна не входить до 20 країн світу, що подає GLOBOCAN (2022). Різний рівень захворюваності в країнах пов'язують з їхнім рівнем розвитку. Вищу захворюваність на РПЗ реєструють у Європі (7,8 %) та Північній Америці (8,0 %) [4]. Перше місце в списку GLOBOCAN (2022) посідає Угорщина, на 20 – країни Південно-Центральної Азії. Відмінності щодо захворюваності та смертності пацієнтів із РПЗ пов'язують із расовими особливостями, різними факторами ризику, прогресом у діагностиці та лікуванні [1,2,3,4,5,6]. Можливо, відмінність звичок, регіональні фактори довілля впливають на відмінності показників захворюваності по Україні від даних в Запорізькому регіоні та світових параметрів. Дані з різних країн свідчать про можливість зниження захворюваності на РПЗ на 40 % шляхом модифікації способу життя, впливу на фактори довілля [4,6].

Згідно зі статистичними даними, визначають щорічне зростання РПЗ у світі на 0,3–0,5 % [7], а за деякими даними – на 1,0 % [6].

В Україні після суттєвого зниження захворюваності у 2016 році (1,9 %) впродовж наступних 2017–2018 рр. спостерігали зростання випадків виявлення папілярної аденокарциноми підшлункової залози на 1,5–2,2 %, що значно перевищувало середні світові показники. З 2019 року спостерігають сприятливу динаміку. Після підвищення у 2019 році на 0,6 % захворюваність на РПЗ у 2020–2021 рр. знизилась загалом на 17,1 %, у 2021 році вона була найнижчою за останні 8 років, що, втім, може бути зумовлено пандемією COVID-19.

У Запоріжжі та області, як і в Україні загалом, найбільш несприятливим також був 2018 рік, коли приріст захворювання на РПЗ перевищив і світовий, і національний – 9,0 %. Але у 2020 рік у Запорізькому регіоні визначили зниження показника на 30,3 %, що був удвічі кращим за дані по Україні. За загальною онкозахворюваністю Запорізький регіон до 2018 року перебував на 2–3 місці з-поміж усіх регіонів України. З 2019 року ситуація в області різко покращилась, коли регіон посів 5 місце у 2019 році, 9 місце – у 2020, 15 місце – у 2021 році. За кількістю випадків РПЗ Запорізька область з 6 місця впродовж 2015–2019 рр. опустилась на 15 і 14 місця у 2020 й 2021 р. відповідно. Така динаміка в регіоні також може бути пов'язана з пандемією COVID-19.

Національний показник смертності від РПЗ гірший за світовий, посідає 6 місце, у світі – 7, хоча в західних країнах РПЗ є п'ятою причиною смертності від раку. Згідно з прогнозами, надалі смертність від РПЗ перебуватиме на третьому місці, на якому нині перебуває рак молочної залози [7].

РПЗ частіше виявляють у чоловіків, частіше – у високорозвинутих країнах [1,2,3,4,5,6]. Згідно з літературними фаховими даними, це може бути зумовлено екологічними чи професійними факторами ризику, способом життя, інтенсивним курінням і надмірним споживанням алкоголю [8,9]. Припускають також вплив не відомих досі генетичних факторів [1,6].

Згідно з даними GLOBOCAN (2022), найвищу захворюваність на РПЗ у світі в 2022 році визначено в Північній Америці (8,5), Європа посіла друге місце (8,0), на останньому місці – Африка (2,4). За смертністю від цієї патології в 2022 році переважала Європа (7,3), Північна Америка – на другому місці (6,6), найнижча смертність зафіксована в Африці (2,2). Незважаючи на низькі показники захворюваності в Африці, Азії (3,6), Латинській Америці (4,6), коефіцієнт захворюваності / смертність у цих регіонах становить 0,2 в країнах Латинської Америки, 1,1 – в Африці і Азії, не відрізняється від показників у високорозвинутих країнах Північної Америки (1,29) та Європи (1,1).

Рівень захворюваності на РПЗ серед чоловіків, згідно з даними GLOBOCAN (2022), в усіх регіонах вищий, ніж серед жінок, з коефіцієнтом 1,2–1,4 [3,4]. Смертність

з-поміж чоловіків у світі також вища, ніж серед жінок (в 1,2–1,5 раза).

В Україні чоловіки також хворіють частіше за жінок. Кількість чоловіків віком до 60 років удвічі більша за кількість жінок; після 60 років чоловіки переважають в 1,1–1,5 раза. У Запорізькому регіоні, навпаки, у період 2015–2017 рр. жінки хворіли частіше з тенденцією до збільшення цієї переваги (1,0–1,1), а в наступні 2018–2019 рр. переважали чоловіки (1,9–1,0). Однакову кількість випадків РПЗ у жінок і чоловіків діагностували в 2020 році. Отже, в Україні статевая схильність до РПЗ залежить від віку.

Незважаючи на те, що за абсолютними показниками чоловіки хворіють частіше, грубий статистичний показник (кількість випадків на 100 тис. населення) кількості жінок із РПЗ Запорізький регіон перебував у 2015 і 2016 рр. на 8 і 9 місцях, у 2018 році регіон піднявся на 5 місце, у 2017, 2020, 2021 і 2022 рр. область посідала 15–16 місця. За кількістю жінок з-поміж усіх регіонів України Запорізька область перебувала на 4–5 місці, ситуація покращилась у 2020–2021 рр., коли регіон опустився на 11 місце, у 2022 році – 7 місце. У світі чоловіки в 1,5–1,6 раза переважають жінок. За іншими даними, захворюваність серед чоловіків становить 5,5–5,7 порівняно з 4,0–4,1 у жінок [1,2,3,4,5,6].

В огляді SEER Cancer Statistics стверджують, що РПЗ є переважно захворюванням старшого віку, і більшість пацієнтів є старшими за 50 років [9,10]. Дійсно, ризик розвитку раку підшлункової залози зростає з віком, і найвищий показник припадає на вік від 60 до 80 років [9,10]. РПЗ рідко виникає в осіб віком до 40 років, а середній вік у понад половині випадків аденокарциноми підшлункової залози становить 71 рік. Причина такого пізнього віку ще не з'ясована [9,10].

В Україні та Запорізькому регіоні, як і у всьому світі, на папілярну аденокарциному підшлункової залози хворіють особи віком від 30 до 87 років, і пік захворювання припадає на вік після 70 років. Втім, є дані, що зростання відбувається до 55 років. Так, в Індії, яка не належить до країн із високим рівнем життя, пік захворюваності припадає на 60 років [1,6]. У США, високорозвинутій країні, пік захворювання спостерігають після 70 років [5].

Надзвичайно актуальним в Україні та світі є рання діагностика РПЗ. Світові показники суттєво відрізняються від національних. У локалізованій стадії, згідно з даними USNCI (U. S. National Cancer Institute), діагностують лише 9,4 % випадків, за іншими даними, діагностика 0 та І стадій становить 2,0 %. Рівень виявлення захворювання на стадії віддаленого метастазування у світі становить 52 %. У фаховій літературі навіть наводять дані, за якими лише 15–20 % потребують радикального хірургічного лікування, у 80–85 % діагностують метастатичний або місцево поширений процес [3,4,9,10,11]. В Україні та Запорізькому регіоні виявлення ранніх стадій перебуває на рівні 26,0–36,4 % та 30,7–43,6 % відповідно, занедбані форми становлять 43,8–56,3 % в Україні, 58,6–63,2 % – у Запорізькому регіоні.

Висновки

1. Рак підшлункової залози посідає 12 місце в Україні в структурі онкозахворюваності.

2. Смертність від РПЗ в Україні становить 76,9–82,3 %, у Запорізькій області – 86,2–99,5 % із позитивною динамікою.

3. Рання діагностика РПЗ в Україні та Запорізькому регіоні перебуває на рівні 26,0–36,4 % та 30,7–43,6 % відповідно, діагностика занедбаних стадій – на рівні 43,8–56,3 % в Україні, 58,6–63,2 % – у Запорізькому регіоні.

4. В Україні спеціальним лікуванням охоплено 25,3–31,9 % первинних хворих, регіональний показник – 17,9–26,6 % із позитивною динамікою.

5. Ефективність первинної профілактики РПЗ в Україні сягає 3,3 %, регіональний показник не перевищує 3,0 %.

6. Удосконалення профілактичних заходів, визначення груп ризику розвитку РПЗ, модифікація способу життя є факторами покращення прогнозу та виживаності таких пацієнтів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Шишкін М. А., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-8979-8463

Кабаченко В. О., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-7219-6634

Information about the authors:

Shyshkin M. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kabachenko V. O., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Bray F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Zanetti R, Ferlay J, editors. Cancer incidence in five continents Volume XI. Lyon: International Agency For Research On Cancer ; Geneva; 2021. <https://publications.iarc.fr/597>
- Yabroff KR, Wu XC, Negoita S, Stevens J, Coyle L, Zhao J, et al. Association of the COVID-19 Pandemic With Patterns of State-wide Cancer Services. *J Natl Cancer Inst.* 2022;114(6):907-909. doi: 10.1093/jnci/djab122
- Global burden of gastrointestinal cancers [Internet]. *Iarc.fr.* 2022. Available from: <https://gco.iarc.fr/stories/gastro-intestinal/en>
- Gaidhani RH, Balasubramaniam G. An epidemiological review of pancreatic cancer with special reference to India. *Indian J Med Sci.* 2021;73(1):99-109. doi: 10.25259/IJMS_92_2020
- Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin.* 2022;72(1):7-33. doi: 10.3322/caac.21708
- Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory [Internet]. *gco.iarc.fr.* 2022. Available from: <https://gco.iarc.fr/en>
- Corredor C, Piñeros M, Wiesner C, de Vries E. Using administrative registries as a source for population-based cancer incidence and mortality. *BMC Cancer.* 2024;24(1):232. doi: 10.1186/s12885-023-11754-w

8. Wang S, Zheng R, Li J, Zeng H, Li L, Chen R, et al. Global, regional, and national lifetime risks of developing and dying from gastrointestinal cancers in 185 countries: a population-based systematic analysis of GLOBOCAN. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2024;9(3):229-37. doi: [10.1016/S2468-1253\(23\)00366-7](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(23)00366-7)
9. Yuan S, Chen J, Ruan X, Sun Y, Zhang K, Wang X, et al. Smoking, alcohol consumption, and 24 gastrointestinal diseases: Mendelian randomization analysis. *Elife*. 2023;12:e84051. doi: [10.7554/eLife.84051](https://doi.org/10.7554/eLife.84051)
10. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). SEER*Stat Databases: SEER November 2020 Submission. Bethesda (MD): Surveillance Research Program, National Cancer Institute; 2020 [cited 2024 Apr 14]. Available from: <https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2020/>
11. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER). SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics. Bethesda (MD): Surveillance Research Program, National Cancer Institute; 2021 Sep 27 [cited 2024 Apr 14]. Available from: <https://seer.cancer.gov/explorer/>



Steroid-induced dermatoses: a challenge for modern dermatology

H. I. Makurina^{A,B,E,F}, L. O. Cherneda^{B,C,D}

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

The aim of this work is to determine the variability and significance of motivating and provoking factors associated with the uncontrolled use of topical glucocorticosteroids, psychological features of this condition.

Materials and methods. 50 patients with exacerbation of inflammatory dermatoses after long-term topical application of drugs with glucocorticosteroids as an active substance were examined. The key diagnostic measures were a clinical examination, an anamnesis collection with clarification of the activity class of the used agent, duration and potential reason for its systematic or periodic use. Assessment of the psycho-emotional state in relation to self-perception of one's own body was carried out using the dermatological version of the dysmorphic disorder questionnaire – BDDQ-DV.

Results. The main pathology for which patients of both sexes used this group of drugs were rosacea, perioral dermatitis, and seborrheic dermatitis. Taking into account anamnestic data, the mean duration of application of topical corticosteroids in creams, ointments or lotions was 10.25 ± 3.50 months for women and 8.3 ± 1.6 months for the male cohort. Most patients received information about the need to use a topical steroid from acquaintances / friends and pharmacists. The most frequent pharmacological agent was betamethasone dipropionate.

Analyzing the psychopathological aspect of the studied group, dysmorphic manifestations are prevalent and the most well argued. 32 individuals (64 %) from the cohort met the criteria for concern about the body or its parts.

Conclusions. Regional clinical features of steroid-induced dermatoses, which are mostly represented by chronic inflammatory conditions located in aesthetically significant areas, have been determined. 64 % of patients with steroid-induced dermatoses develop a psychopathological profile. An important aspect remains the necessity to raise the awareness of medical, pharmaceutical workers, and the public about the need and correct use of topical corticosteroids.

Keywords: glucocorticosteroids, inflammation, dermatoses, dermatitis, body dysmorphic disorder, diagnosis, treatment.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):176-181

Глюкокортикостероїд-залежні дерматози: виклик для сучасної дерматології

Г. І. Макуріна, Л. О. Чернеда

Мета роботи – визначення варіабельності та значущості мотиваційних і провокаційних факторів, асоційованих із неконтрольованим використанням топічних глюкокортикостероїдів, психологічних особливостей цього стану.

Матеріали і методи. Обстежили 50 пацієнтів із загостренням запальних дерматозів після тривалого місцевого нанесення лікарських засобів із глюкокортикостероїдами як діючою речовиною.

Ключові діагностичні заходи – клінічний огляд, збір анамнезу з уточненням класу активності використаного засобу, тривалості та потенційної причини систематичного або періодичного його використання. Психоемоційний стан щодо самосприйняття власного тіла оцінювали за допомогою дерматологічної версії опитувальника дисморфічного розладу – BDDQ-DV.

Результати. Основні патології, внаслідок яких пацієнти обох статей використовували препарати цієї групи, – розацеа, періоральний дерматит і себорейний дерматит. Згідно з анамнестичними даними, середня тривалість нанесення місцевих кортикостероїдів у формі кремів, мазей або лосьйонів становила $10,25 \pm 3,5$ місяця для жінок і $8,3 \pm 1,6$ місяця для чоловіків. Інформацію про необхідність використання топічного стероїду більшість пацієнтів отримали від знайомих / друзів і фармацевтів-провізорів. Найчастіший активний фармакологічний компонент – бетаметазону дипропіонат.

Проаналізувавши психопатологічний аспект обстежених, встановили: дисморфічні прояви превалюють і є найбільш аргументованими. Із загальної когорти 32 (64 %) особи відповідали критеріям стурбованості щодо тіла або окремих його частин.

Висновки. Визначено регіональні клінічні особливості стероїд-залежних дерматозів, які здебільшого є хронічними запальними станами, виникають на естетично значущих ділянках. У 64 % пацієнтів зі стероїд-залежними дерматозами формується психопато-

ARTICLE INFO



UDC 616.5-002-02:615.357.065]-07-08
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.301223](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.301223)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):176-181

Keywords: glucocorticosteroids, inflammation, dermatoses, dermatitis, body dysmorphic disorder, diagnosis, treatment.

*E-mail: lillia271212@gmail.com

Received: 03.04.2024 // Revised: 24.04.2024 // Accepted: 04.05.2024

логічний профіль. Нагальною залишається потреба у підвищенні обізнаності медичних, фармацевтичних працівників і населення щодо необхідності й коректного використання топічних кортикостероїдів.

Ключові слова: глюкокортикостероїди, запальні дерматози, дисморфічний розлад, діагностика, лікування.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 176-181

In recent years, the widespread use of glucocorticosteroids in dermatological practice was marked not only by the opening of new horizons in the treatment of inflammatory dermatoses but also by several challenges that are increasingly difficult to overcome in modern conditions. Indeed, a significant advantage of these drugs in systemic and topical forms is the rapid elimination of inflammatory lesions on the skin. On the other hand, their uncontrolled use led to the emergence of a new nosological unit – steroid-induced dermatoses. The problem's urgency is discussed not only on the sidelines of the medical community. Thus, when evaluating social networks, S. Bowe et al. determined that mentions of the hashtag “withdrawal of topical corticosteroids” increased by 274 % in 2020 compared to 2016 [1].

In researching this topic, one may encounter a wide array of synonymous definitions, such as withdrawal phenomenon, addiction syndrome, or ‘red skin,’ of the concept of steroid-induced dermatoses. But despite this, the context is constant and uncompromising. Steroid-induced dermatoses refer to pathological changes in the skin resulting from uncontrolled, long-term, and inadequate use of systemic and/or topical corticosteroids. Clinical manifestations will vary depending on the primary condition of the skin (such as psoriasis, rosacea, and acne), unifying signs are the simultaneous increase of both subjective (such as itching, burning, and sleep disturbances) and objective manifestations (such as active involvement in of the pathological process of larger areas, pronounced exudative outbreaks of exacerbation, tolerance to previous treatment) [2].

It's important to note the classic expected side effects of long-term corticosteroid use, including hypertrichosis, acneiform rash, telangiectasia, and skin atrophy. Identifying a single dominant factor that triggers this condition is challenging, as it typically involves a combination of contributing factors. First of all, social conditions are a catalyst not only for the activity of exacerbations of dermatoses, but also for the formation of difficulties in obtaining medical care. Insufficient economic levels, natural disasters, and wars pose a significant danger to the medical system and the recipients of medical services, ordinary patients. In such circumstances, individuals may lack access to in-person consultations and resort to self-treatment or follow advice from acquaintances when selecting medications.

Among dermatological patients, glucocorticosteroids often serve as a “lifeline” due to their rapid action. However, without a proper understanding of prescribing tactics, this treatment approach can lead patients to a “dead end” from which it's difficult to escape without qualified assistance. The beginning of a full-scale war in Ukraine demonstrated this trend among dermatological patients. The progression of the “snowball effect” in patients is quite telling: skin appearance

or exacerbation of the condition → prolonged uncontrolled corticosteroid use → drug withdrawal with initial improvement → rapid and aggressive exacerbation of the condition → lack of response to previous therapy, necessitating increased steroid dosage → emergence of concurrent topical / systemic side effects.

The second, but no less important reason for the increase in the number of steroid-dependent dermatoses is uncontrolled over-the-counter access to these drugs.

Therefore, the medical community must establish a unified approach to the appropriate prescription of hormonal therapy and the development of management protocols for patients exhibiting pathological resistance to glucocorticosteroid medications.

Aim

The aim of this work is to determine the variability and significance of motivating and provoking factors associated with the uncontrolled use of topical glucocorticosteroids, psychological features of this condition.

Materials and methods

Based on the Department of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, 50 patients with exacerbation of inflammatory dermatoses after long-term topical application of drugs with glucocorticosteroids as an active substance were examined.

The exacerbation was characterized by active inflammation resistant to previous therapy, extending beyond the boundaries of the existing dermatosis. In addition to clinical assessment of the skin condition, key diagnostic measures included gathering anamnestic data to determine the potency class of the agent used, its duration, and the potential reasons for systematic or periodic use.

Assessment of the psycho-emotional state of self-perception of the appearance of one's own body and appearance defects was carried out using the dermatological version of the dysmorphic disorder questionnaire – BDDQ-DV (The Body Dysmorphic Disorder Questionnaire – Dermatology Version).

Statistical processing of the obtained results was carried out on a personal computer in the program Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., license No. JPZ804I382130ARCN10-J).

Results

The gender distribution of the studied sample shows a slight female predominance, with 28 women and 22 men examined, constituting 56 % and 44 % of the total number, respectively. This suggests a tendency towards frequent and uncontrolled use of topical steroids in both sexes. It is noteworthy that the average age among women was 28.7 ± 9.2 years, while among

Table 1. Distribution of the main nosologies among patients of different genders

The initial reason	Men (n = 22)	Women (n = 28)
Rosacea	10 (45.5 %)	9 (32.1 %)
Perioral dermatitis	2 (9.1 %)	8 (28.6 %)
Psoriasis	2 (9.1 %)	4 (14.3 %)
Balanitis/eczema of the scrotum (in men), eczema of the hands (in women)	2 (9.1 %)	2 (7.1 %)
Seborrheic dermatitis	6 (27.2 %)	3 (10.8 %)
Hyperpigmentation	–	2 (7.1 %)



Fig. 1. The result of uncontrolled use of topical steroids. **a:** steroid-induced perioral dermatitis; **b:** eczema.

men it was 39.5 ± 15.0 years. These findings may suggest an earlier initiation of effective cosmetic or medical products among women, partially explaining the earlier exposure to corticosteroids.

The main pathology for which patients of both sexes used this group of drugs was the presence of a skin disease with a tendency to facial localization – rosacea, perioral dermatitis and seborrheic dermatitis (Table 1).

Both papules with silver-white peeling on the surface in psoriasis and pustules in acneiform diseases are highly stigmatizing among dermatological patients. Moreover, the appearance of a relatively stable clinical picture, characterized by a recurrent rash on visibly exposed areas of the body, often leads to despondency among our patients, prompting them to constantly seek changes in treatment tactics. This search inevitably leads to the use of topical corticosteroids due to their accessibility and rapid anti-inflammatory effects. As seen in Table 1, there are cases of men with genital lesions and a history of steroid addiction. For instance, one patient in the observation group reported using a combined remedy after each intercourse for two years, eventually leading to the appearance of the “red scrotum” sign.

The duration of the development of addiction is a rather individualized concept that is challenging to accurately quantify. Clinical manifestations such as abnormally altered skin reactivity to previous therapy and difficulties in controlling persistent remission serve as the main indicators. Based on the anamnestic data, the average duration of topical corticosteroid application in the form of creams, ointments, or lotions was 10.25 ± 3.5 months for women and 8.3 ± 1.6 months for the male cohort. For instance, among the studied sample, the patient with perioral dermatitis held the record for the longest duration of product application, using a steroid cream daily or every other day for 2 years (Fig. 1a), while the highest frequency of use was observed in a patient with eczema, who applied the active agent 5 times a day for 7 days (Fig. 1b).

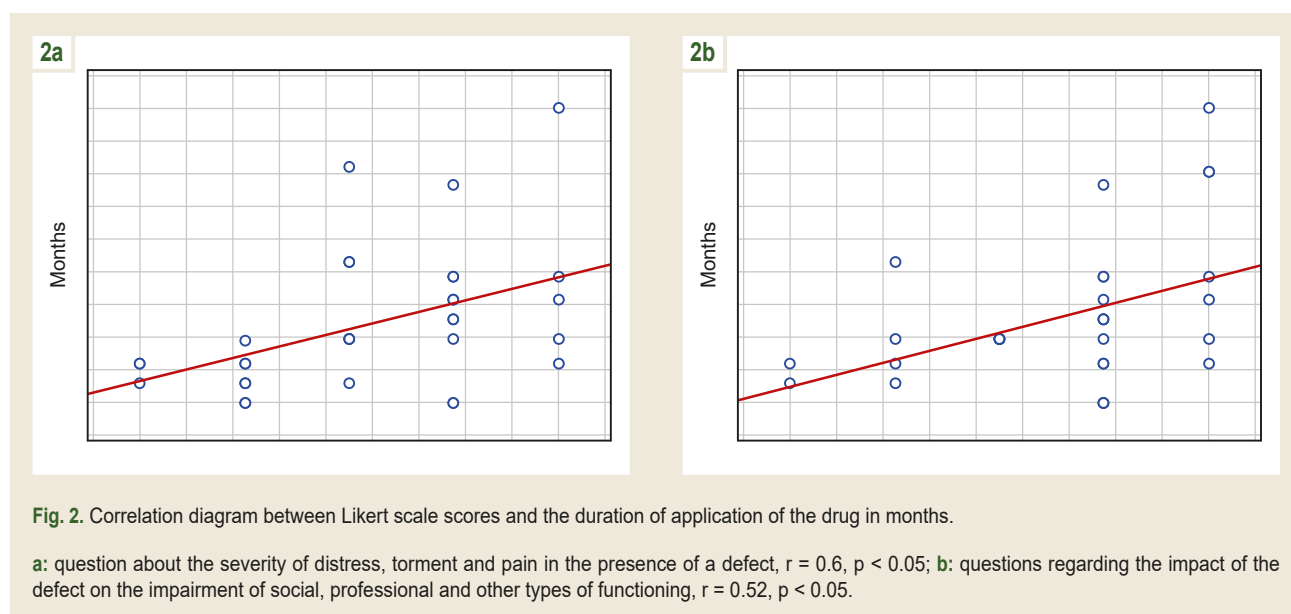
Table 2 illustrates that betamethasone dipropionate emerged as the most commonly used pharmacological agent. This trend can be attributed to its widespread popularity among family physicians and its inclusion in official combined formulations (antimycotic-antibiotic-steroid). Unfortunately, there is a concerning tendency towards the prolonged and unverified use of the potent clobetasol, even on the sensitive skin of the face and genitals. The relatively lower cost of

Table 2. Characteristics of a topical agent in the formation of a steroid-induced state

Active ingredients	Number of patients, n = 50
Betamethasone dipropionate	16 (32 %)
Clobetasol propionate	12 (24 %)
Fluticasone propionate	6 (12 %)
Mometasone furoate	9 (18 %)
Fluocinonide	4 (8 %)
Fluocinolone acetonide	3 (6 %)

Table 3. Distribution of primary sources when providing advice on the need to prescribe topical corticosteroids

Source of advice	Number of patients, n = 50
Acquaintances / friends / colleagues	27 (54 %)
Pharmacist	11 (22 %)
Advertising in social networks	9 (18 %)
Advice from a family physicians	3 (6 %)



fluorinated corticosteroids also contributes to their continued prominence in this ranking of drugs associated with the “withdrawal phenomenon”.

In the context of this topic, the source of recommendations regarding the safety, dosage regimen, and overall necessity of prescribing a topical corticosteroid is equally important. An analysis of the anamnestic data revealed that the majority of patients received information about the use of topical steroids from acquaintances / friends and pharmacists (Table 3). Such a selection process undermines the effective and safe management of patients with skin diseases. For instance, perioral dermatitis or rosacea, conditions prevalent in the majority of our studied sample, are generally contraindicated for treatment with corticosteroids, especially in the context of daily, routine application.

When trying to establish the main motive for the need to use topical glucocorticosteroids, the psychological profile of the studied patients comes to the fore. During the initial conversation, most of the recipients demonstrated physical dissatisfaction with their appearance, primarily due to the activity of the main dermatological disease. Topical corticosteroids were perceived as a means to achieve rapid clinical improvement, fulfilling this need for quick results.

Analyzing the psychopathological aspect of the studied sample, dysmorphic manifestations are prevalent and the most well-argued. 32 persons (64 %) from the general cohort met the criteria for concern about the body or its parts. Thus, for these patients, the affirmative answer was accompanied by questions not only about the immediate presence of body anxiety but also about regular thoughts around this problem.

It is worth noting that excessive attention is paid to those areas where there is the greatest concentration of rash elements. Also, the vast majority of those interviewed according to additional criteria defined their defect as stigmatizing: causes pronounced distress ($n = 21$) and affect quality social functioning ($n = 26$), corresponding to indicators on the Likert scale of more than 3 within the range BDDQ-DV. When studying Spearman's correlation, a noticeable relationship was found between the points on the above scale and the duration of application of the product (Fig. 2a, 2b). This, in turn, demonstrates the following behavioral pattern: the greater the impact of dysmorphic disorder, the longer the patient used topical corticosteroids.

Thus, the presence of dysmorphic disorder can serve as a modifying factor, prompting patients with initial dermatosis to more actively use topical corticosteroids to minimize the defect, hide it from the social environment, and mask it from themselves.

Discussion

Considering the estimation of individual analyst groups, the topical corticosteroid sales market, showing a compound annual growth rate of 6 % during 2021–2030, will reach USD 8.19 billion by the end of this period [3]. This rather indicative marketing assessment correlates with the real clinical need for these tools, particularly in dermatological practice. The objectively pronounced anti-inflammatory effect and speed of action ensure an increase in the level of popularity of this group of drugs. But the “cornerstone” in this case is precisely the correctness of their appointment: adequate in terms of duration, dosage, and suitability for one or another nosology. Therefore, it is important to focus on their correct use, without provoking polar states: steroid addiction and steroidophobia [4,5,6].

The variety of initial dermatoses is quite heterogeneous and varies widely depending on the demographic and social characteristics of the studied sample. Thus, according to Jain et al. solving aesthetic problems to eliminate hyperpigmentation became the primary reason in the context of the need to use topical corticosteroids [7]. Other studies show the dominance of acne or dermatophytes [8,9]. The appearance of these nosologies in the list may be related to the peculiarities of the epidemiological distribution of diseases and traditional treatment schemes for each region. It is worth noting that in our work there is a significant advantage of acneiform diseases as the root cause of the start of steroid use. And such a trend in the modern dermatological discourse, regarding the registration of facial dermatoses, leads to the appearance of new nosological units – “topical steroid-induced perioral and rosacea-like dermatitis” [10,11]. Compared to our data, pigmentation disorders are not prevalent, which can be explained by the peculiarities of the phototype, the difference in exposure to ultraviolet radiation, and the choice of other, more often laser, methods in the treatment of melasma.

Analyzing the literature sources on the pharmacological characteristics of drugs that provoke steroid-induced con-

ditions, we have results quite similar to our work. After all, clobetasol, betamethasone, and mometasone are the most frequently used agents in skin diseases [7,9,12]. The frequent use of these agents in combinations and over-the-counter availability are the main reasons for their popularity among the population, which, according to various scientific studies, is more often guided by the advice of friends or not profile specialists [13,14].

The chronic course of the disease with an active skin rash on the one hand and the desire to meet the generally accepted norms of “beauty” on the other – often push our patients to take a rash step in listening to the advice of colleagues. Thus, the expediency and duration of corticosteroid use is not a reasoned professional point of view.

Indeed, the manifestation of a steroid-induced condition may not solely be attributed to a lack of qualified care or the patient's limited medical knowledge. A basic change in the psycho-emotional background can be one of the dominant factors. Brookes et al. show a certain tendency to register in patients with withdrawal syndrome anxiety, depression, and even suicidal thoughts [15]. Moreover, according to a systematic review, body dysmorphia is observed in 12.65 % of dermatological patients and 15.04 % of clients seeking plastic surgery services [16]. Considering the insufficient number of relevant literary sources regarding the influence of steroid-induced dermatoses on body self-perception, it is rather difficult to talk about the possibility of comparing their results with our own. But, at the same time, the quite indicative level of self-esteem violation in the studied sample indicates the prospects for further analysis of this topic, expanding the boundaries of clinical psychodermatological practice.

In addition to the above, another question arises, which, is another challenge for a modern specialist. What should be the tactics of treatment of patients with steroid-induced dermatosis? According to the literature, possible options are the appointment of a weaker steroid, antibiotics, or topical calcineurin inhibitors [10]. There are reports of the 10 % tranexamic acid and the JAK1 inhibitor abrocitinib in steroid-dependent manifestations of rosacea [17,18]. Undoubtedly, it is necessary to try to reduce the level of addiction, but there is no single regulated way.

Thus, given the rather long and undeniably effective history of topical corticosteroids in dermatological practice, there is still a need to increase awareness regarding the product for medical professionals and the public. The introduction of prescription dispensing of this group of drugs in the pharmacy network can play a significant role. Only their correct and appropriate use will be able to remove the “halo” of phobias and prejudices about steroids, leaving only evidence and effectiveness.

Conclusions

1. Regional clinical features of steroid-induced dermatoses, which are predominantly represented by chronic inflammatory conditions located in aesthetically significant areas, have been determined.

2. In 64 % of patients with steroid-induced dermatoses, a psychopathological profile is formed, which is represented by dysmorphic manifestations.

3. An important aspect remains the need to raise the awareness of medical, and pharmaceutical workers and the public about the need and correct use of topical corticosteroids. The recognition of the professional opinion of a healthcare worker should authoritatively surpass the statements of the mass media, consulting pharmacists, advertising integrations, or the “experience” of acquaintances due to the introduction of prescription dispensing of drugs of the specified group.

Prospects for further research. The obtained data will serve as the basis for the formation of a diagnostic and therapeutic algorithm for patients with steroid-induced conditions. The information on the psychopathological profile of patients will expand the limits of the examination of psychodermatological consultations.

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

Information about the authors:

Makurina H. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Dermatovenereology and Aesthetic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3293-2748

Cherneda L. O., PhD, Assistant of the Department of Dermatovenereology and Aesthetic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3057-8685

Відомості про авторів:

Макурина Г. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дерматовенерології та естетичної медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Чернеда Л. О., д-р філософії, асистент каф. дерматовенерології та естетичної медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Bowe S, Masterson S, Murray G, Haugh I. Topical steroid withdrawal through the lens of social media. *Clin Exp Dermatol.* 2022;47(8):1554-7. doi: 10.1111/ced.15194
- Sheary B. Steroid Withdrawal Effects Following Long-term Topical Corticosteroid Use. *Dermatitis.* 2018;29(4):213-8. doi: 10.1097/DER.0000000000000387
- Topical Corticosteroids Market Size, Analysis, Forecast 2030 [Internet]. Spherical Insights. [cited 2024 Mar 25]. Available from: <https://www.sphericalinsights.com/reports/topical-corticosteroids-market>
- Contento M, Cline A, Russo M. Steroid Phobia: A Review of Prevalence, Risk Factors, and Interventions. *Am J Clin Dermatol.* 2021;22(6):837-51. doi: 10.1007/s40257-021-00623-6
- Nickles MA, Coale AT, Henderson WJ, Brown KE, Morrell DS, Nieman EL. Steroid phobia on social media platforms. *Pediatr Dermatol.* 2023;40(3):479-82. doi: 10.1111/pde.15269
- Hwang J, Lio PA. Topical corticosteroid withdrawal ('steroid addiction'): an update of a systematic review. *J Dermatolog Treat.* 2022;33(3):1293-8. doi: 10.1080/09546634.2021.1882659
- Jain S, Mohapatra L, Mohanty P, Jena S, Behera B. Study of Clinical Profile of Patients Presenting with Topical Steroid-Induced Facial Dermatitis to a Tertiary Care Hospital. *Indian Dermatol Online J.* 2020;11(2):208-11. doi: 10.4103/idoj.IDOJ_259_19
- Rohit V, Reddy SR, Gajula N, Deepthi K. A study on the clinical profile of dermatoses induced by topical corticosteroids. *Int J Res Dermatol.* 2022;7(2):177-83 doi: <https://dx.doi.org/10.18203/issn.2455-4529.IntJResDermatol20210041>
- Prabhu SR, Patel VR, Naveen KN, Athanikar SB, Madhusudhana M. The study on clinical pattern of topical steroid induced dermatoses. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists.* 2022;32(1):136-41. Available from: <https://www.jpap.com.pk/index.php/jpad/article/view/1827>
- Diehl KL, Cohen PR. Topical Steroid-Induced Perioral Dermatitis (TOP STRIPED): Case Report of a Man Who Developed Topical Steroid-Induced Rosacea-Like Dermatitis (TOP SIDE RED). *Cureus.* 2021;13(4):e14443. doi: 10.7759/cureus.14443
- Fan X, Yin Y, Dou W, Li T, Xue P, Yang Q, Ma Q. Successful Treatment of Corticosteroid-Induced Rosacea-Like Dermatitis with Platelet-Rich Plasma Mesotherapy: Report of Seven Cases. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2021;11(2):615-23. doi: 10.1007/s13555-021-00492-1
- Sudhakar S, Kayalvizhi VA, Sikkandar S, Muthukrishnan M. Topical steroid abuse in commercial sex workers: a cross-sectional analytical study in a tertiary care center *Int J Res Dermatol.* 2020;6(4):463-7. doi: 10.18203/issn.2455-4529.IntJResDermatol20202648
- Meena S, Gupta LK, Khare AK, Balai M, Mittal A, Mehta S, Bhatri G. Topical Corticosteroids Abuse: A Clinical Study of Cutaneous Adverse Effects. *Indian J Dermatol.* 2017;62(6):675. doi: 10.4103/ijd.IJD_110_17
- Varshney I, Amin SS, Adil M, Mohtashim M, Bansal R, Khan HQ. Topical Corticosteroid Abuse- Risk factors and Consequences. *JDA Indian Journal of Clinical Dermatology.* 2019;2(3):72-7. Available from: <https://www.e-ijcd.in/pdf/issue-2019/issue3/3.pdf>
- Brookes TS, Barlow R, Mohandas P, Bewley A. Topical steroid withdrawal: an emerging clinical problem. *Clin Exp Dermatol.* 2023;48(9):1007-11. doi: 10.1093/ced/llad161
- Ribeiro RV. Prevalence of Body Dysmorphic Disorder in Plastic Surgery and Dermatology Patients: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Aesthetic Plast Surg.* 2017;41(4):964-70. doi: 10.1007/s00266-017-0869-0
- Jakhar D, Kaur I, Misri R. Topical 10% tranexamic acid for erythematotelangiectatic steroid-induced rosacea. *J Am Acad Dermatol.* 2022;86(1):e1-e2. doi: 10.1016/j.jaad.2019.12.067
- Xu B, Xu Z, Ye S, Sun H, Zhao B, Wu N, et al. JAK1 inhibitor abrocitinib for the treatment of steroid-induced rosacea: case series. *Front Med (Lausanne).* 2023;10:1239869. doi: 10.3389/fmed.2023.1239869



Аналіз ефективності засвоєння теоретичних знань і практичних навичок лікарями-інтернами за допомогою технології віртуального пацієнта «Body Interact» в умовах викликів сьогодення

М. Ю. Колесник^{id}A-F, Я. М. Михайловський^{id}*A,B,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 – проаналізувати ефективність засвоєння теоретичних знань і практичних навичок лікарями-інтернами за допомогою використання технології віртуального пацієнта «Body Interact» при дистанційній (онлайн) і традиційній (офлайн) формах навчання.

Матеріали і методи. До дослідження залучені 22 лікарі-інтерни другого року навчання зі спеціальності «Внутрішні хвороби», що проходили навчання на кафедрі терапії та кардіології Навчально-наукового інституту післядипломної освіти Запорізького державного медико-фармацевтичного університету у 2022–2023 рр., з них 17 навчалися в очному (офлайн), 5 – у дистанційному (онлайн) форматі. Успішність засвоєння теоретичних знань оцінювали за результатами складання державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка». Ступінь опанування практичних компетенцій визначали шляхом проходження лікарями-інтернами сценаріїв надання медичної допомоги із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact».

Результати. Встановлено, що ефективність традиційного (офлайн) і дистанційного (онлайн) навчання є зрівняною з погляду засвоєння теоретичних знань, про що свідчать однакові результати державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка». Результати складання державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка» і застосування програми віртуального пацієнта «Body Interact» не мали кореляційного зв'язку. Це може свідчити про недостатню репрезентативність тестового оцінювання щодо опанування практичних навичок. Традиційне (офлайн) навчання лікарів-інтернів є ефективнішим щодо опанування практичних навичок, що підтверджують кращі результати проходження сценаріїв надання медичної допомоги із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact» у групі традиційного (офлайн) порівняно з групою дистанційного (онлайн) навчання.

Висновки. Використання симуляційної технології віртуального пацієнта «Body Interact» у процесі навчання лікарів-інтернів дає змогу не лише покращити засвоюваність теоретичного навчального матеріалу, але й забезпечує можливість відпрацювати практичну складову. Це має важливе значення в умовах обмежених ресурсів через пандемію COVID-19 і воєнний стан. Доцільним є ширше впровадження технології віртуального пацієнта «Body Interact» у повсякденний освітній процес, особливо під час дистанційного навчання.

Ключові слова: лікарі-інтерни, онлайн навчання, офлайн навчання, технологія віртуального пацієнта, теоретичні знання, практичні навички, ефективність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 182-186

Analysis of the efficiency of theoretical knowledge and practical skills acquisition by intern doctors using the “Body Interact” virtual patient simulator in the conditions of today’s challenges

M. Yu. Kolesnyk, Ya. M. Mykhailovskiy

The aim of the work is to evaluate the efficiency of theoretical knowledge and practical skills acquisition by intern doctors using the body interact virtual patient simulator in distance (offline) and traditional (online) form of education.

Materials and methods. The study involved 22 interns in the second year of study of the specialty “Internal Diseases”. 17 of them studied in offline format, 5 – in distance (online) format. The efficiency of theoretical knowledge acquisition was evaluated based on the results of the Integrated License exam “KROK 3. General Medical Training”. The efficiency of practical skills acquisition was determined by passing scenarios of providing medical care using the virtual patient simulator “Body Interact”.

ARTICLE INFO

UDC 378.147:61:004.383.8:614.23
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.2.302338](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.302338)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):182-186

Keywords: intern doctors, online learning, offline learning, virtual patient technology, theoretical knowledge, practical skills, efficiency.

*E-mail: yarikzgm@gmail.com

Received: 17.04.2024 // Revised: 30.04.2024 // Accepted: 10.05.2024

Results. It has been established that the effectiveness of traditional (offline) and distance (online) learning is comparable in terms of the theoretical knowledge acquisition which is evidenced by the comparative results of passing the Integrated License exam “KROK 3. General Medical Training”. The results of passing the state license integrated exam “KROK 3. General medical training” and the virtual patient “Body Interact” had no correlation, which indicates the insufficient representativeness of the test assessment regarding the practical skills acquisition. Traditional (offline) learning is more effective in practical skills acquisition, which is confirmed by the better results of passing scenarios of providing medical care using the virtual patient program “Body Interact” in the group of traditional form of education compared to the group of online learning.

Conclusions. Utilizing virtual patient simulation technology such as “Body Interact” in the training of intern doctors not only enhances the acquisition of the theoretical educational material but also offers an opportunity to practice practical skills. This is particularly valuable in light of resource constraints resulting from COVID-19 and martial law. Implementing the “Body Interact” virtual patient technology into daily educational practices, especially in the context of distance learning, is advisable.

Keywords: intern doctors, online learning, offline learning, virtual patient technology, theoretical knowledge, practical skills, efficiency.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):182-186

Нині в Україні процес навчання майбутніх лікарів ускладнений багатьма факторами: спочатку – довготривала пандемія COVID-19, а з 24 лютого 2022 року – введення воєнного стану. У період невизначеності та підвищених ризиків підхід до освітнього процесу має бути продуманим, враховувати безпеку для здоров'я та життя студентів, інтернів і викладачів [1].

Пандемія COVID-19 та війна суттєво змінили парадигму і додипломної, і післядипломної медичної освіти в Україні. В умовах викликів сьогодення перед викладачами постало завдання з організації якісного освітнього процесу шляхом використання сучасних інформаційних технологій, що забезпечують дистанційне навчання [2].

Зазначимо, що широке застосування віртуальних технологій, симуляторів і дистанційного навчання – це невід'ємна складова медичної освіти в провідних вишах світу. В Україні Запорізький державний медико-фармацевтичний університет (ЗДМФУ) є лідером з впровадження інноваційних інформаційних технологій у навчальний процес, оскільки має потужний інтелектуальний ресурс і матеріально-технічну базу.

Відомо, що онлайн-навчання пов'язане з низкою труднощів [3]. Суттєвим викликом є створення умов для опанування та закріплення практичних навичок, що необхідні для якісного надання медичних послуг і становлять основу роботи лікаря. Постало також питання щодо способів контролю засвоєних професійних компетенцій та вміння їх застосовувати під час самостійної діяльності лікаря [4].

Один зі шляхів вирішення цієї проблеми – використання технології віртуального пацієнта. Віртуальних пацієнтів визначають як інтерактивне комп'ютерне моделювання клінічних сценаріїв реального життя з метою навчання, освіти чи оцінювання медичних працівників [5]. Цей девайс має чимало переваг, адже дає змогу лікарю-інтерну самостійно ухвалювати рішення щодо методів збору анамнезу, диференційної діагностики, ведення пацієнта та спостереження за ним, не завдаючи при цьому шкоди [5]. Технологія також дає змогу удосконалювати знання і практичні навички, адже є можливість проходити один і той самий сценарій декілька разів. Крім того, навчання з використанням цієї методики дає змогу покращити клінічне мислення, процедурні уміння й навички командної роботи [6].

У ЗДМФУ технологію віртуального пацієнта «Body Interact» широко використовують з 2019 року. Клінічні сценарії, що включені до університетської ліцензії, відповідають актуальним навчальним програмам [7]. Кожен сценарій ґрунтується на сучасних клінічних рекомендаціях і відповідає чинним стандартам надання медичної допомоги [8].

Мета роботи

Проаналізувати ефективність засвоєння теоретичних знань і практичних навичок лікарями-інтернами за допомогою використання технології віртуального пацієнта «Body Interact» при дистанційній (онлайн) і традиційній (офлайн) формах навчання.

Матеріали і методи дослідження

До дослідження залучені 22 лікарі-інтерни другого року навчання зі спеціальності «Внутрішні хвороби», що проходили навчання на кафедрі терапії та кардіології Навчально-наукового інституту післядипломної освіти ЗДМФУ у 2022–2023 рр., з них 17 навчалися в очному (офлайн), 5 – у дистанційному (онлайн) форматі. Успішність засвоєння теоретичних знань оцінювали за результатами складання державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка».

Ступінь опанування практичних компетенцій визначали шляхом проходження лікарями-інтернами сценаріїв надання медичної допомоги із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact». Робота в симуляції починається з так званого брифінгу – ознайомлення з коротким описом клінічного випадку та характеристиками пацієнта. Після цього, залежно від імітованої патології, на основі запитань користувач веде бесіду з віртуальним пацієнтом. На наступному етапі здобувач освіти проводить фізикальний огляд хворого за алгоритмом ABCDE. Так само, як і під час роботи з реальним пацієнтом можна призначити спектр додаткових лабораторних та інструментальних обстежень, результати яких одразу з'являються на екрані. У своєму арсеналі користувач також має широкий перелік лікарських засобів, різних інвазивних і неінвазивних втручань, а також фахівців інших спеціальностей, які в разі необхідності «приходять

Таблиця 1. Результати оцінювання практичних навичок лікарів-інтернів із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact» залежно від форми навчання, %

Шкали оцінювання	Загалом, n = 22	Очне навчання, n = 17	Дистанційне навчання, n = 5
Об'єктивне обстеження	92,50 (72,25; 95,75)	92,00 (63,50; 96,50)	94,00 (78,00; 96,50)
Лабораторне й інструментальне обстеження	100,00 (74,00; 100,00)	100,00 (74,00; 100,00)	100,00 (86,50; 100,00)
Лікування	95,00 (79,25; 100,00)	95,00 (88,00; 100,00)	81,00 (59,50; 95,00)
Загальна оцінка	82,50 (71,00; 94,75)	85,00 (72,00; 97,50)*	71,00 (66,50; 73,00)

*: p < 0,05.

на допомогу». Важливо, що протягом усієї симуляції на дисплеї наведено вітальні показники пацієнта, що динамічно змінюються залежно від дій користувача. Наприкінці симуляції формується висновок щодо правильності дій за трьома компонентами: фізикальним оглядом, діагностичними заходами та лікуванням. Зазначимо, що у висновку є також детальна хронологічна шкала виконаних дій, де наведено, як кожний крок вплинув на життєдіяльність пацієнта.

Оцінювання симуляції здійснює програмне забезпечення у відсотках, надалі інтерпретує викладач, визначаючи загальний результат і окремо за трьома видами діяльності (опитування та фізикальне обстеження, лабораторні й інструментальні дослідження, лікування). Кожну дію класифіковано як перший пріоритет, другий пріоритет або як непріоритетну. За виконання першого пріоритету нараховують бали, непріоритетної дії – штраф, при цьому здійснення другого пріоритету не впливало на кінцевий результат. Також штраф нараховували в разі вичерпання ліміту часу. Успішним вважали результат ≥ 70 %, якщо встановлено правильний діагноз і призначено адекватне лікування.

Статистично дані опрацювали за допомогою програми Statistica 13.0 (StatSoft Inc., № JZ804I382130ARCN10-J) за відомою методикою. Кількісні ознаки наведено як медіана та міжквартильний інтервал (Me (Q25; Q75)), якісні – як абсолютні числа та відсотки (n (%)). Для оцінювання відмінностей між групами, що порівнювали, використали U-критерій Манна-Вітні. Порівняння груп за якісною ознакою, а також дослідження частоти виявлення показників здійснили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць спряженості. Залежність між показниками визначали за допомогою кореляційного аналізу з обрахунком коефіцієнта кореляції Спірмена (r). Результати вважали статистично значущими при p < 0,05.

Результати

Державний ліцензований інтегрований іспит «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка» успішно склали 100 % інтернів. Медіана результатів іспиту становила 90,35 (82,98; 92,85) %. При цьому групи очного та дистанційного формату навчання мали зіставний відсоток правильних відповідей: 88,00 (81,65; 92,35) % та 91,30 (90,35; 95,00) % відповідно (p > 0,05).

Зі сценарієм надання медичної допомоги із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact»

успішно впоралися 18 (81,82 %) інтернів. Медіана результатів становила 82,50 (71,00; 94,00) %. Достовірно кращий загальний бал мали інтерни очної форми навчання порівняно з інтернами, які навчалися дистанційно: 85,00 (72,00; 97,50) % та 71 (66,50; 73,00) % відповідно. Бали за окремими етапами надання допомоги у групах достовірно не відрізнялися (табл. 1).

Не виявили кореляційних зв'язків між результатами складання ліцензованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка» та застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact» загалом і в окремих групах (p > 0,05). Отже, ефективність традиційного й дистанційного навчання щодо засвоєння теоретичних знань лікарями-інтернами зівставна.

Технологія віртуального пацієнта має чимало переваг, особливо під час іспитів, оскільки дає змогу стандартизувати завдання, має чіткі критерії оцінювання, формує покроковий звіт про виконання [8]. Технологія віртуального пацієнта «Body Interact» є зручним інструментом для викладача: можна відстежувати прогрес лікарів-інтернів, добирати «тематичних» пацієнтів, відтворювати випадки з власного професійного досвіду шляхом самостійного створення сценаріїв симуляції.

Разом із тим інтерни потребують живого контакту з пацієнтом через особисту взаємодію для розвитку клінічних (комунікативних) навичок. Учасники освітнього процесу визнають це важливим аспектом і оцінюють діджиталізацію в медичній освіті дуже диференційовано.

Обговорення

Майстерність і професіоналізм майбутнього лікаря ґрунтуються на професійних компетенціях, що містять теоретичні знання, практичні вміння та комунікативні навички. Набути цей унікальний досвід впродовж навчання в низькостресовому для лікарів-інтернів і безпечному для пацієнтів середовищі можна тільки в умовах симуляційного тренінгу [9]. Останнім часом інтерес до симуляційного медичного навчання в Україні в складних умовах сьогодення значно зростає [10,11].

Нині все більше уваги приділяють безпеці пацієнтів, етичним питанням, збільшенню відповідальності медичних працівників, високому рівню необхідної професійної кваліфікації та швидкій еволюції процедур і методів. Використання методики симуляційної медицини дає змогу усунути психологічний бар'єр спілкування з пацієнтом і сприяє отриманню медичного досвіду ліка-

рем-інтерном [10]. В умовах дистанційного навчання за допомогою симуляційних технологій можна змодельовати надзвичайну ситуацію, де постраждали потребуватимуть невідкладної допомоги, що дасть змогу професійно та вчасно надати невідкладну допомогу та врятувати життя пацієнта в реальних умовах [12].

Кілька років поспіль в освітньому процесі ЗДМФУ лікарів-інтернів використовують віртуальний симулятор пацієнта «Body Interact», який об'єднав фундаментальні аспекти з різних клінічних напрямів. Віртуальний пацієнт, укомплектований різноманітними сценаріями з інфекційних хвороб, кардіології, пульмонології, гастроентерології, ендокринології, педіатрії, невідкладних станів, дає змогу опанувати й удосконалити навички збору анамнезу, клінічного обстеження, інтерпретації лабораторних, інструментальних методів дослідження, діагностики й диференційної діагностики, лікування основного захворювання та ускладнень шляхом призначення препаратів, вибору дозування, враховуючи масу тіла, зріст чи інші параметри пацієнта. При цьому стан віртуального пацієнта динамічно змінюється залежно від правильності надання допомоги. Тому у лікарів-інтернів є унікальна можливість зрозуміти коректність своїх дій, проаналізувати помилки, зробити висновки.

Використання технології віртуального пацієнта «Body Interact» під час підготовки лікарів-інтернів дає змогу покращити засвоєність теоретичного навчального матеріалу, відпрацювати на манекені практичну складову, сприяє формуванню мотивації до навчання, розвитку індивідуальних професійних здібностей, формуванню навичок командної роботи та взаємодії. Особливо важливе значення симуляційне навчання має в умовах обмеження доступу до пацієнтів через протиепідемічні заходи, пов'язані з поширенням COVID-19, а також запровадженням воєнного стану [13]. Важливо, що цю технологію можна використовувати з індивідуального гаджету, що робить її доступною та доцільною в будь-яких умовах.

Доцільним є ширше впровадження технології віртуального пацієнта «Body Interact» в повсякденний освітній процес, особливо під час дистанційного навчання. Оцінивши результати дистанційного навчання лікарів-інтернів, встановили достатній рівень засвоєння теоретичних знань, але недостатній рівень опанування практичних навичок. Про це свідчать кращі результати проходження сценаріїв надання медичної допомоги із застосуванням технології «Body Interact» у групі традиційного навчання.

Аналіз очно-заочного навчання лікарів-інтернів підтвердив думку фахівців щодо позитивних і негативних сторін дистанційного навчання. Так, дистанційний формат навчання дає змогу отримати нову інформацію, обговорити актуальні й важливі питання, ознайомитися з сучасними технологіями діагностики й лікування захворювань, але в такому форматі складно опанувати практичні навички, передусім мануальні.

Тому, на думку лікарів-інтернів, оптимальною формою навчання має бути традиційна. Перспективи й прийнятність традиційного навчання в післядипломній медич-

ній освіті в умовах сьогодення потребують вивчення й удосконалення.

Висновки

1. Ефективність традиційного (офлайн) і дистанційного (онлайн) навчання є зрівняною з погляду засвоєння теоретичних знань, про що свідчать однакові результати державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка».

2. Результати складання державного ліцензійного інтегрованого іспиту «КРОК 3. Загальна лікарська підготовка» і застосування програми віртуального пацієнта «Body Interact» не мали кореляційного зв'язку. Це може свідчити про недостатню репрезентативність тестового оцінювання щодо опанування практичних навичок.

3. Традиційне (офлайн) навчання лікарів-інтернів є ефективнішим щодо опанування практичних навичок, що підтверджують кращі результати проходження сценаріїв надання медичної допомоги із застосуванням програми віртуального пацієнта «Body Interact» у групі традиційного (офлайн) порівняно з групою дистанційного (онлайн) навчання.

4. Використання симуляційної технології віртуального пацієнта «Body Interact» у процесі навчання лікарів-інтернів дає змогу не лише покращити засвоєність теоретичного навчального матеріалу, але й забезпечує можливість відпрацювати практичну складову. Це має важливе значення в умовах обмежених ресурсів через пандемію COVID-19 і воєнний стан. Доцільним є ширше впровадження технології віртуального пацієнта «Body Interact» у повсякденний освітній процес, особливо під час дистанційного навчання.

Перспективи подальших досліджень полягають в аналізі ефективності застосування симуляційного навчання з використанням можливостей Міжкафедрального тренінгового центру ЗДМФУ для опанування лікарями-інтернами практичних навичок.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Колесник М. Ю., д-р мед. наук, професор каф. терапії, кардіології та неврології, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0000-0001-7566-1899

Михайловський Я. М., PhD, асистент каф. терапії, кардіології та неврології, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0000-0002-1310-8585

Information about the authors:

Kolesnyk M. Yu., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Therapy, Cardiology and Neurology, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Mykhailovskiy Ya. M., PhD, Assistant of the Department of Therapy, Cardiology and Neurology, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Hilburg R, Patel N, Ambruso S, Biewald MA, Farouk SS. Medical education during the Coronavirus Disease-2019 pandemic: Learning from a distance. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2020;27(5):412-7. doi: [10.1053/j.ackd.2020.05.017](https://doi.org/10.1053/j.ackd.2020.05.017)
- Kolesnyk YM, Avramenko MO, Morhuntsova SA, Ryzhov OA. Kroky transformacii osvityjogho procesu do dystancijnoji formy navchannja u ZDMU [Steps of transformation of the educational process to the distance form of education at ZDMU]. In: Kolesnyk YM, Voronenko YV, editors. Aktualni pytannja dystantsiinoi osvity ta telemedytsyny 2020: Proceedings of the All-Ukrainian scientific and methodical video conference with international participation [Internet]; 2020 Nov 19-20; Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, 2020 [cited 2024 Apr 1]. p. 3-5. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/13522>
- O'Doherty D, Dromey M, Lougheed J, Hannigan A, Last J, McGrath D. Barriers and solutions to online learning in Medical Education – an Integrative Review. *BMC Medical Education*. 2018;18(1):130. doi: [10.1186/s12909-018-1240-0](https://doi.org/10.1186/s12909-018-1240-0)
- Bączek M, Zagańczyk-Bączek M, Szpringer M, Jaroszyński A, Wożakowska-Kapłon B. Students' perception of online learning during the COVID-19 pandemic. *Medicine*. 2021;100(7):p e24821. doi: [10.1097/md.00000000000024821](https://doi.org/10.1097/md.00000000000024821)
- Kononowicz AA, Woodham LA, Edelbring S, Stathakarou N, Davies D, Saxena N, et al. Virtual patient simulations in Health Professions Education: Systematic Review and meta-analysis by the Digital Health Education Collaboration. *J Med Internet Res*. 2019;21(7):e14676. doi: [10.2196/14676](https://doi.org/10.2196/14676)
- Romanova KB. Dosvid mizhkafedralnoho treninhovoho tsentru v umovakh zmishanoho navchannja u Zaporizkomu derzhavnomu medychnomu universyteti [Experience of the interdepartmental training center in conditions of mixed learning at the Zaporizhzhia State Medical University]. In: Kolesnyk YM, editor. Dosvid vprovadzhennja zmishanoi formy navchannja u ZDMU, traiektoria rozvytku ta mistse v systemi vyshchoi medychnoi osvity: conference proceedings [Internet]; 2021 May 26; Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, 2021 [cited 2024 Apr 1]. p. 112-3. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/14515>
- Usachova OV, Konakova OV, Silina YA, Pakholchuk TM, Dralova OA. Dosvid roboty z virtualnym patsientom na platformi "Body Interact" na kafedri dytiachykh infektsii v umovakh pandemii COVID-19 [Experience of working with a virtual patient on the "Body Interact" platform at the Department of Pediatric Infections in the context of the COVID-19 pandemic]. In: Kolesnyk YM, editor. Dosvid vprovadzhennja zmishanoi formy navchannja u ZDMU, traiektoria rozvytku ta mistse v systemi vyshchoi medychnoi osvity: conference proceedings [Internet]; 2021 May 26; Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine, 2021 [cited 2024 Apr 1]. p. 26-7. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/14032>
- Kolesnyk MY. The first experience of using the body interact simulation interactive training platform as a part of interns' attestation. *Medychna osvita*. 2020;(2):71-4. doi: [10.11603/me.2414-5998.2020.2.11150](https://doi.org/10.11603/me.2414-5998.2020.2.11150)
- Suvorkina AO. Suchasni pytannja dystancijnogho navchannja u zabezpechenni jakosti medychnoi osvity: perevaghy ta nedoliky. In: Marichereda VH, editor. Zabezpechennja yakosti osvity u vyshchii medychnii shkoli: conference proceedings; 2023 Jan 18-20; Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine, 2023. p. 562-5. Ukrainian.
- Zhukova TO, Vasko LM, Pochernyaeva VF, Marchenko VY, Udaltsova-Grodzinska KO. [Simulation training as a basic platform of modern education]. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2020;4(158):222-4. Ukrainian. doi: [10.29254/2077-4214-2020-4-158-222-224](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-222-224)
- Mykhailovska NS, Lisova OO, Konovalova OO. Rol symuljatsiinoho navchannja v medychnii osviti [The role of simulation training in medical education]. In: Shulhai AH, editor. Suchasni tendentsii ta perspektivy rozvytku vyshchoi medychnoi (farmatsevtichnoi) osvity v Ukraini. Materials of the 20th All-Ukrainian Scientific and Practical conferences with international participation in the online mode for using the Microsoft Teams platform [Internet]; 2023 May 18-19; Ternopil: Ukrmedknyha; 2023 [cited 2024 Apr 1]. p. 120-2. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/19375>
- Elshama SS. How to apply Simulation-Based Learning in Medical Education?. *Iberoamerican Journal of Medicine*. 2020;2:79-86. [http://doi.org/10.5281/zenodo.3685233](https://doi.org/10.5281/zenodo.3685233)
- Mykhailovska NS, Stetsiuk IO, Konovalova MO, Khoker TO, Lisova OO. Osoblyvosti symuljatsiinoho navchannja studentiv-medykiv v umovakh sohodennja [Peculiarities of simulation training of medical students in today's conditions]. In: Kapustnyk VA, Markovskiy VD, Miasoiedov VV, et al., editors. Aktualni pytannja pedahohiky vyshchoi medychnoi osvity : conference proceedings; 2023 Mar 21; Kharkiv: KhNMU; 2023. [cited 2024 Apr 1]. p. 187-9. Ukrainian. Available from: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/19364>



Synthesis methods of 1,2,4-triazole-3-thiones: review

Yu. S. Frolova¹, A. H. Kaplaushenko¹, T. V. Ihnatova², T. M. Kaplaushenko³

¹Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine, ²Private Higher Educational Institution "Pylyp Orlyk International Classical University", Mykolaiv, Ukraine, ³Medical College of 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

1,2,4-Triazole-containing compounds are unique heterocyclic compounds present in an array of pharmaceuticals and biologically important compounds used in drug-discovery studies against cancer cells, microbes, and various types of diseases in the human body.

The aim of the study was to analyze in detail and combine the available literature materials to study the reactions associated with the formation of different classes of derivatives of 1,2,4-triazole-3-thione and to study their physical-chemical properties.

Various innovative methods have been proposed and explored for synthesizing different classes of 1,2,4-triazole compounds, each with distinct applications and potential medicinal benefits. When analyzing the outcomes of studies aimed at obtaining new 1,2,4-triazole-3-thiones, it's crucial to recognize the multiple stages involved in their synthesis. These stages typically include the esterification of carboxylic acids, hydrazinolysis, the formation of carbothioamides, and thiones through alkaline cyclization. Subsequently, reactions involving the S-function are conducted, leading to the formation of various classes of derivatives of 1,2,4-triazole.

The study by a team of scientists introduced a novel method for synthesizing imidazolyl- and imidazole-1,2,4-triazoles, targeting the design of safer analgesic and anti-inflammatory agents.

Moreover, researchers have successfully synthesized derivatives of 3-[2-(5-thio-4-aryl-4*H*-1,2,4-triazole-3-yl)ethyl]quinoxalin-2(1*H*)-one, *N*-(3-thio-5-aryl-[1,2,4]triazole-4-yl)acylamides, 5-alkylthio-4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole and 3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-*a*]pyrimidine-2-thiomethyl)-6-aryl-5,6-dihydrogen-1,2,4-triazole-[3,4-*b*]-1,3,4-thiadiazole, 5,5'-(alkyldiyl-bis(sulfandiyl))bis(*N*-(arylidene)-3-thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-4-amines, 3-(arylsulfonyl)-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4*H*-1,2,4-triazole, expanding the scope of 1,2,4-triazole-based, compounds with potential pharmacological activities. Furthermore, the synthesis of molecules containing two 1,2,4-triazole and two benzole rings has gained traction, offering new avenues for drug development.

Mannich bases were synthesized from the corresponding thiones through a reaction with *N*-methylpiperazine or *N*-phenylpiperazine in dimethylformamide in the presence of formaldehyde.

Additionally, the synthesis of salts derived from 1,2,4-triazole highlights its importance in pharmaceutical formulations, with studies focusing on both organic and inorganic salts for potential therapeutic applications.

Conclusions. The analysis of the above-mentioned publications indicates that the search for new biologically active compounds among derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiones is promising. Many 1,2,4-triazole-3-thiones exhibit a wide spectrum of biological activity with little toxicity.

Keywords: 1,2,4-triazole, physical-chemical properties, transformation.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):187-196

Методи синтезу 1,2,4-тріазол-3-тіонів: огляд

Ю. С. Фролова, А. Г. Каплаушенко, Т. В. Ігнатова, Т. М. Каплаушенко

Сполуки, що містять 1,2,4-тріазол, є унікальними гетероциклічними сполуками, містяться в низці фармацевтичних препаратів і біологічно важливих сполук. Похідні 1,2,4-тріазолу використовують у лікарських засобах, зокрема вони містяться в препаратах проти ракових клітин, мікробів і різних типів захворювань в організмі людини.

Мета роботи – детально проаналізувати й об'єднати відомості наукової літератури щодо вивчення реакцій, пов'язаних з утворенням різних класів похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, а також вивчити їхні фізико-хімічні властивості.

Запропоновано та досліджено інноваційні методи синтезу різних класів сполук 1,2,4-тріазолу; кожен із них застосовують, і кожен має потенційну медичну користь. Під час аналізу результатів досліджень, спрямованих на отримання нових 1,2,4-тріазол-3-тіонів, важливо розрізняти етапи їх синтезу. Ці стадії зазвичай включають етерифікацію карбонових кислот, гідразіноліз, утворення кар-

ARTICLE INFO



UDC 547.792'286.2.03/04.057

DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.302616

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):187-196

Keywords: 1,2,4-triazole, physical-chemical properties, transformation.

*E-mail: yuliia_hulina@ukr.net

Received: 23.04.2024 // Revised: 06.05.2024 // Accepted: 16.05.2024

ботіоамідів і тіонів шляхом лужної циклізації. Згодом проводять реакції за участю S-функції, що призводять до утворення різних класів похідних 1,2,4-тріазолу.

Розроблено новий метод синтезу імідазоліл- та імідазол-1,2,4-тріазолів, спрямований на розробку безпечніших анальгетиків і протизапальних засобів.

Синтезовано похідні 3-[2-(5-тіо-4-арил-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)етил]хіноксалін-2(1H)-ону, N-(3-тіо-5-арил-[1,2,4]тріазол-4-іл)ациламіді, 5-алкілтіо-4-аміно-3-(5,7-диметил-1,2,4-тріазоло[1,5-а]піримідин-2-тіометил)-1,2,4-тріазол і 3-(5,7-диметил-1,2,4-тріазоло[1,5-а]піримідин-2-тіометил)-6-арил-5,6-дигідроген-1,2,4-тріазол-[3,4-б]-1,3,4-тіадіазол, 5,5'-(алкілдііл-біс(сульфандііл))біс(N-(ариліден)-3-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміни, 3-(арилсульфоніл)-4-феніл-5-(3,4,5-триметоксифеніл)-4H-1,2,4-тріазол, що розширює сферу застосування сполук на основі 1,2,4-тріазолу з потенційною фармакологічною активністю. Перспективним для розроблення ліків є синтез молекул, що містять два 1,2,4-тріазолових і два бензольних кільця.

Основи Манніха синтезували з відповідних тіонів реакцією з N-метилпіперазином або N-фенілпіперазином у диметилформаміді за наявності формальдегіду.

Синтез солей, отриманих із 1,2,4-тріазолу, підкреслює його важливість у фармацевтичних композиціях. Актуальними є дослідження органічних і неорганічних солей для потенційного терапевтичного застосування.

Висновки. Аналіз фахової літератури свідчить про перспективність пошуку нових біологічно активних сполук з-поміж похідних 1,2,4-тріазол-3-тіонів. Чимало 1,2,4-тріазол-3-тіонів характеризуються широким спектром біологічної активності з незначними показниками гострої токсичності.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, фізико-хімічні властивості, перетворення.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 187-196

Compounds containing 1,2,4-triazole are an exceptional class of heterocyclic compounds found in a diverse range of pharmaceuticals and biologically significant substances utilized in studies for discovering drugs targeting cancer cells, microbes, and various diseases in humans.

Prior to integrating a novel bioactive compound into medical or veterinary practices, it is customary that meticulous selection of research subjects is a prerequisite for a favorable outcome in developing original, effective, and low-toxicity medications. It is noteworthy that presently, scientists worldwide are actively involved in simulating the 1,2,4-triazole system, exploring various properties of the heterocycle and the formation of its fundamental "structures", which could pave the way for the discovery of new molecules possessing unique properties akin to 1,2,4-triazole derivatives.

Before embarking on the creation of a new molecule, it is imperative to thoroughly review recent literature and explore the amalgamation of different atomic and molecular fragments within a molecule containing 1,2,4-triazole. This investigation holds significant interest for medical professionals, pharmaceutical experts, and synthetic chemists alike.

A comprehensive examination of recent literature underscores the importance of studying the properties of derivatives of 1,2,4-triazole in contemporary research. Among these derivatives, particular attention is warranted for derivatives of 1,2,4-triazole-3-thione, which serve as focal points in various research endeavors. Notably, there exists a lack of systematic organization of information regarding the research findings concerning derivatives of 1,2,4-triazole-3-thione.

Aim

The purpose of the study was to analyze in detail and combine the available literature materials to study the reactions associated with the formation of different classes of derivatives of 1,2,4-triazole-3-thione and to study their physical-chemical properties.

This research review used systems and content analysis to process the literature over the past ten years.

The synthesis of 1,2,4-triazole holds significant importance in both domestic [1,2,3,4,5,6,7,8,9] and international synthetic chemistry [10,11,12,13,14,15,16] today. When analyzing the outcomes of studies aimed at obtaining new 1,2,4-triazole-3-thiones, it's crucial to recognize the multiple stages involved in their synthesis. These stages typically include the esterification of carboxylic acids, hydrazinolysis, the formation of carbothioamides, and thiones through alkaline cyclization [17]. Subsequently, reactions involving the S-function are conducted, leading to the formation of various classes of derivatives of 1,2,4-triazole.

A team of scientists [18] has proposed an innovative method for the synthesis of imidazolyl-1,2,4-triazoles, with the aim of designing and synthesizing new, safer analgesic and anti-inflammatory agents. The desired structures were synthesized by first obtaining the ethyl ester of 5-methyl-1H-imidazole-4-carboxylic acid. Subsequent reaction of hydrazine hydrate with this ether yielded 5-methyl-1H-imidazole-4-carboxylic acid hydrazide, which was then converted into 4-R-5-(5-methyl-1H-imidazole-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione through the addition of potassium thiocyanate or isothiocyanate (Fig. 1).

The authors [18] conducted a study to assess the analgesic and anti-inflammatory activities of the synthesized structures as potential medicinal products. Upon analyzing the compounds, it was found that 4-methyl-5-(5-methyl-1H-imidazole-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione, 4-phenyl-5-(5-methyl-1H-imidazole-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione, and 5-(5-methyl-1H-imidazole-4-yl)-4-(4-methylphenyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione exhibited significant analgesic properties and demonstrated high levels of anti-inflammatory action compared to the control, indomethacin.

Continuing our literature analysis, we came across a publication by Indian scientists [19] outlining the synthesis of novel

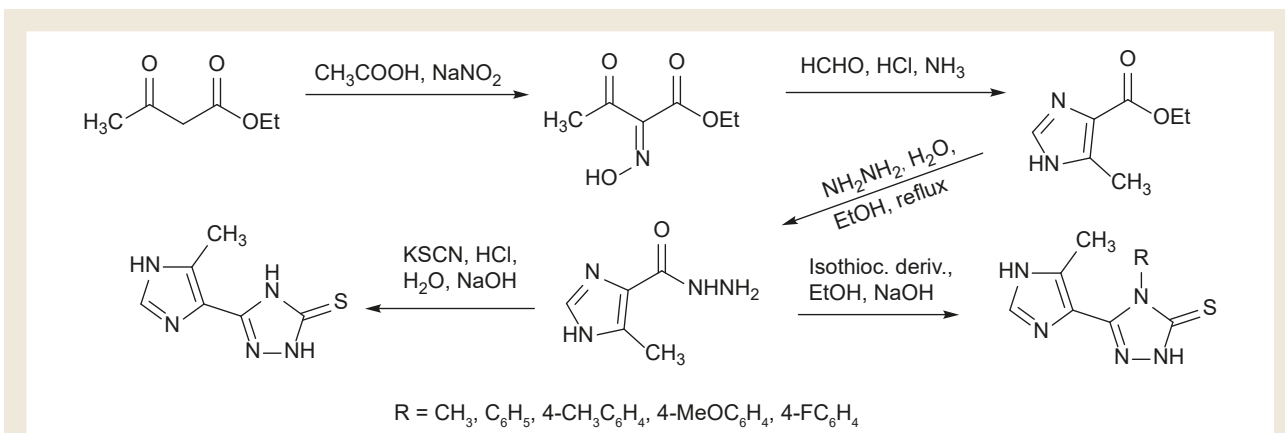


Fig. 1. Scheme of synthesis of 4-R-5-(5-methyl-1H-imidazol-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione.

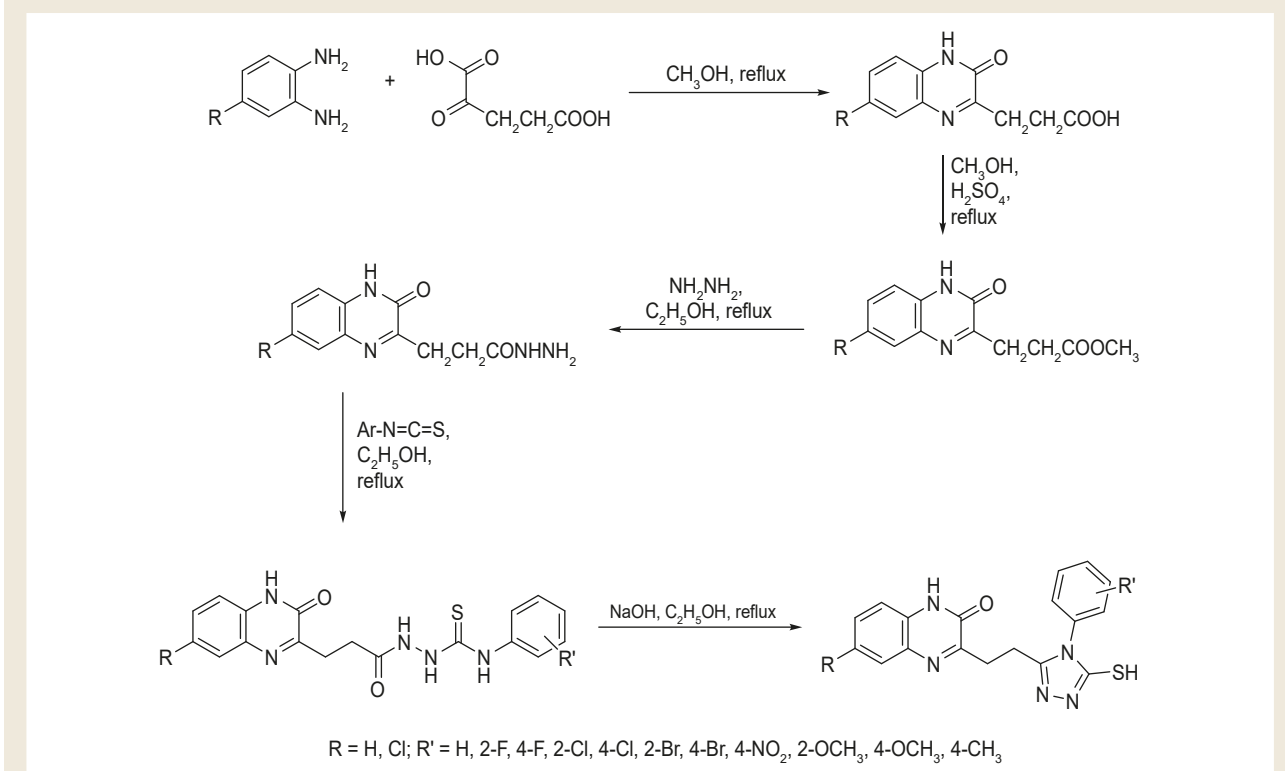


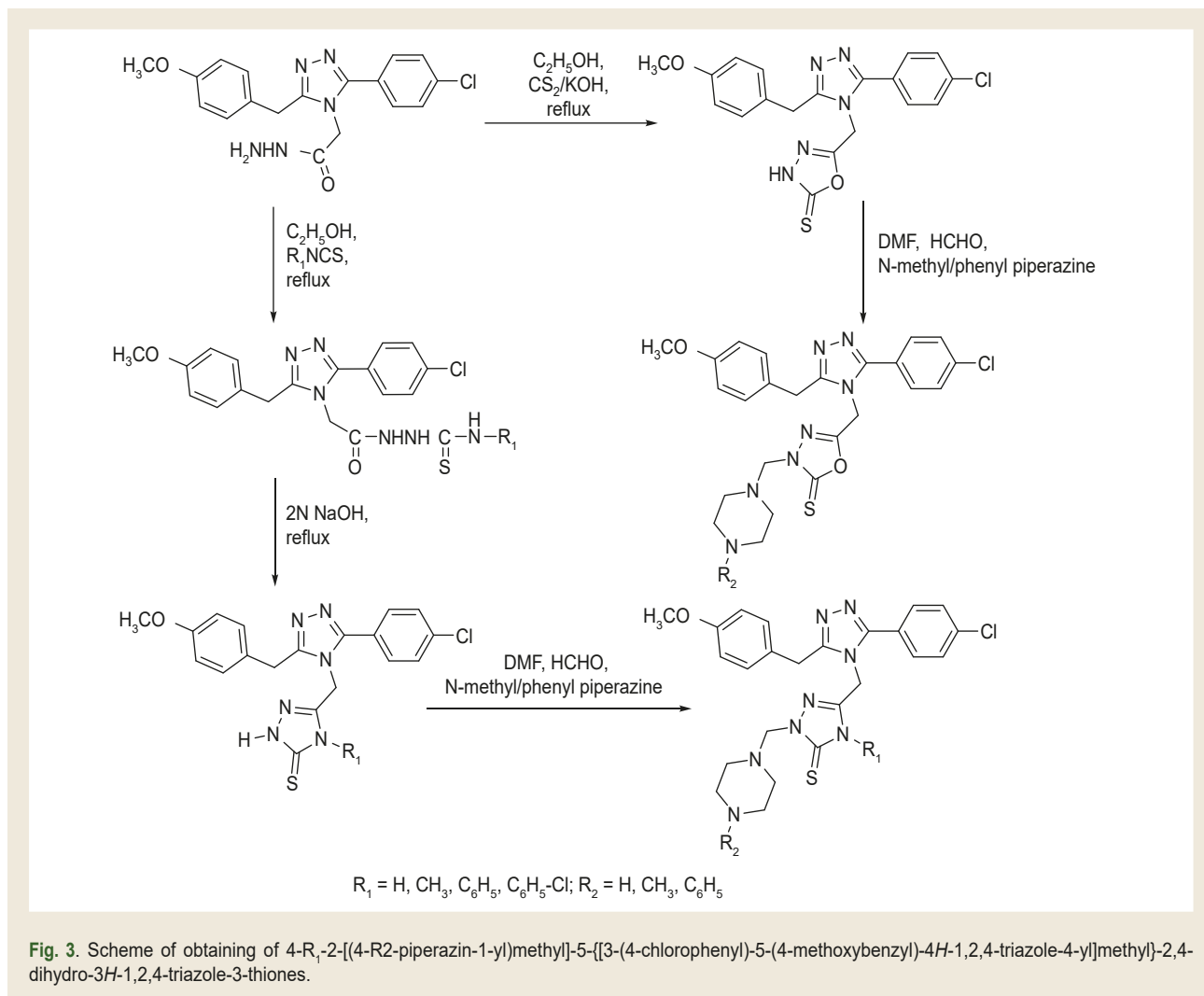
Fig. 2. Stages of synthesis of 3-[2-(5-thio-4-aryl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)ethyl]quinoxalin-2(1H)-one derivatives.

derivatives of 3-[2-(5-thio-4-aryl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)ethyl]quinoxalin-2(1H)-one. The starting materials employed were 4-R-benzene-1,2-diamine and 4-chlorobenzene-1,2-diamine, along with α -ketoglutaric acid. Through successive stages of synthesis, in Fig. 2, the researchers successfully obtained 3-[2-(5-thio-4-aryl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)ethyl]quinoxalin-2(1H)-one and 7-chloro-substituted quinoxaline derivatives.

In recent times, the synthesis of molecules containing two 1,2,4-triazole rings has gained widespread use [20]. An original synthesis method involves the creation of a molecule consisting of 4-R₁-2-[(4-R₂-piperazin-1-yl)methyl]-5-[[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]methyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones,

incorporating two 1,2,4-triazole heterocycles [21]. The synthesis reactions of the target compounds are illustrated in Fig. 3. Specifically, the reaction of 2-[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]acetohydrazide with various isothiocyanates resulted in the formation of 2-[[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]acetyl]-4-alkyl/aryl-thiosemicarbazides. Subsequent alkaline cyclization of these compounds with NaOH yielded the corresponding 5-[[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]methyl]-4-alkyl/aryl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones.

The intramolecular cyclization of 2-[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]acetohydrazide with carbon disulfide in the presence of potassium



hydrazide in an alcoholic medium yielded 5-[[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazole-4-yl]methyl]-1,3,4-oxdiazole-2(3H)-thione.

Mannich bases were synthesized from the corresponding thiones through a reaction with *N*-methylpiperazine or *N*-phenylpiperazine in dimethylformamide in the presence of formaldehyde (Fig. 3).

Continuing our analysis of substances containing the 1,2,4-triazole core and exhibiting pharmacological activity, it's noteworthy to highlight the synthesis of 2-((5-(4-(1H-benzimidazol-2-yl)phenyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)-1- R_1 -1-ones, which demonstrate antifungal effects [22]. The synthesis of these target compounds was carried out as depicted in Fig. 4.

In the initial stage, methyl-4-(5(6)- R_1 -1H-benzimidazol-2-yl)benzoates were synthesized through the reaction of methyl-4-formylbenzoate with the respective *o*-phenylenediamine in the presence of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. Subsequently, the synthesized compounds underwent treatment with excess hydrazine hydrate to yield hydrazides of 4-(5(6)- R_1 -1H-benzimidazol-2-yl)benzoic acid. In the third stage, these hydrazides of benzoic acid were reacted with alkyl isothiocyanates. Following this, cyclization in an alkaline medium facilitated

the formation of the corresponding 1,2,4-triazole-3-thiones. Finally, a substitution reaction occurred between 2-bromoacetophenones and the synthesized thiones, resulting in the desired target compounds (Fig. 4) [22].

A team of scientists from Switzerland [23] introduced an innovative synthesis method for 4-(1H-1,2,4-triazole-5-ylthio)-1,2-dihydropyrazole-3-one. This compound was synthesized through the hydrazinolysis of 5-ethoxymethylenethiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6-one in an ethanol environment. The modification of 1H-1,2,4-triazole-3-thione involved a two-step reaction: S-alkylation with chloroethanoic acid following the conditions of the Williamson reaction, succeeded by a one-step cyclization through condensation with triethylorthoformate in the medium of ethanoic anhydride (Fig. 5). The structural elucidation of the compounds was confirmed through LC-MS, NMR spectra, and independently validated via X-ray structural analysis.

Another intriguing synthesis is the production of 6- R_3 -3-(1,4-benzodioxan-2-yl)thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole-5(6H)-ones, known for their antimicrobial properties. Initially, 2-[5-(1,4-benzodioxan-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio]ethanoic acid was synthesized through the reaction of

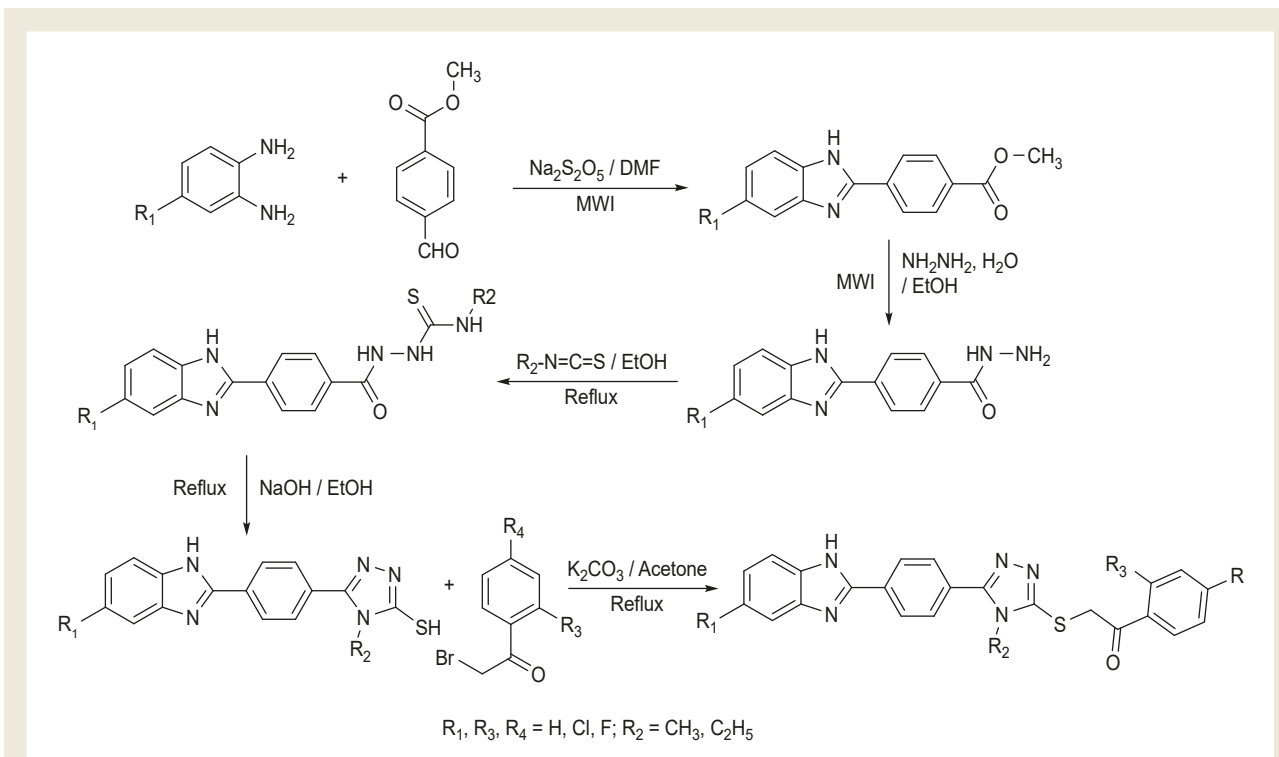


Fig. 4. Synthesis of target compounds of 2-((5-(4-(1H-benzimidazol-2-yl)phenyl)-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)-1-R-1-ones.

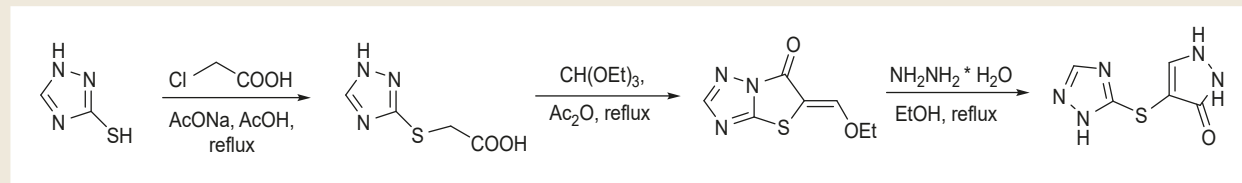


Fig. 5. Synthesis scheme of 5-ethoxymethylenediazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6-one and 4-(1H-[1,2,4]triazole-5-ylthio)-1,2-dihydropyrazole-3-one.

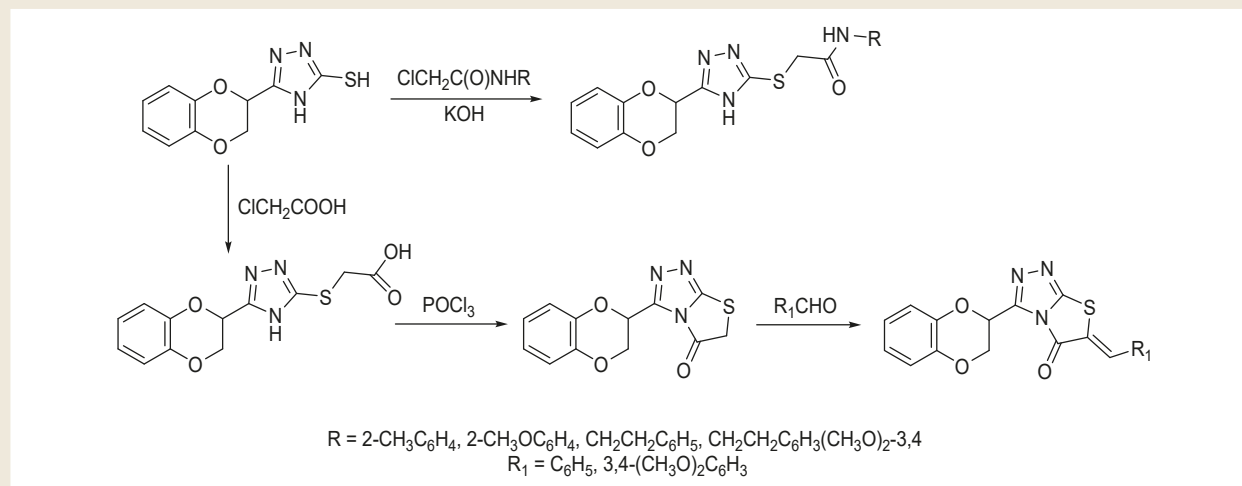


Fig. 6. Synthesis of 6-R-3-(1,4-benzodioxan-2-yl)thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole-5(6H)-ones.

5-(1,4-benzodioxan-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione with chloroethanoic acid (Fig. 6). Subsequently, the synthesized compound underwent cyclization under the influence of phosphorus oxychloride, yielding 3-(1,4-benzodioxan-2-yl)thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole-5(6H)-one.

Due to an active methylene fragment, 3-(1,4-benzodioxan-2-yl)thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole-5(6H)-one underwent reaction with aromatic aldehydes, leading to the formation of new thiazolotriazolones. The synthetic potential of 5-(1,4-benzodioxan-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione can

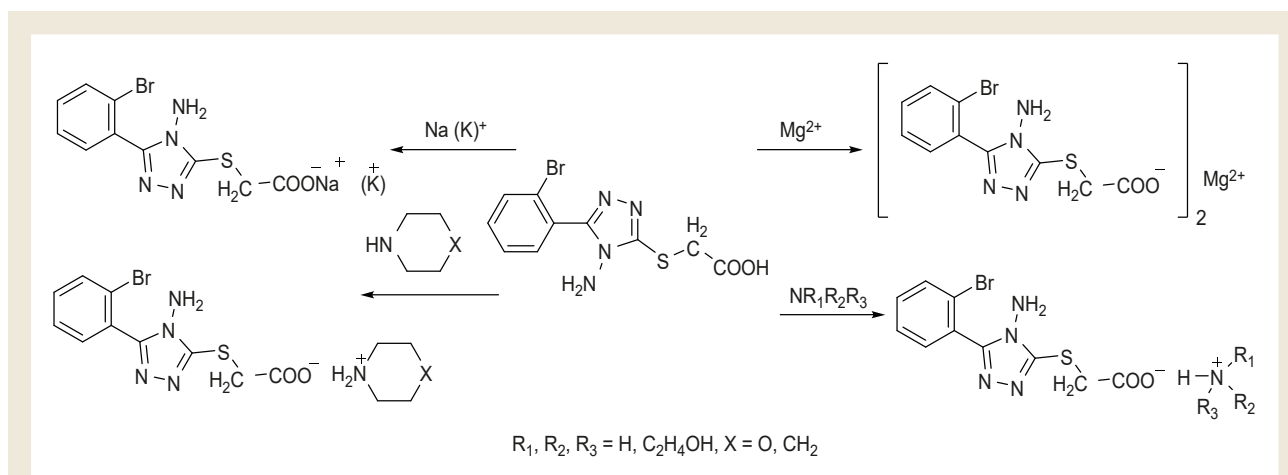


Fig. 7. Synthesis scheme of salts of 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)ethanoic acid.

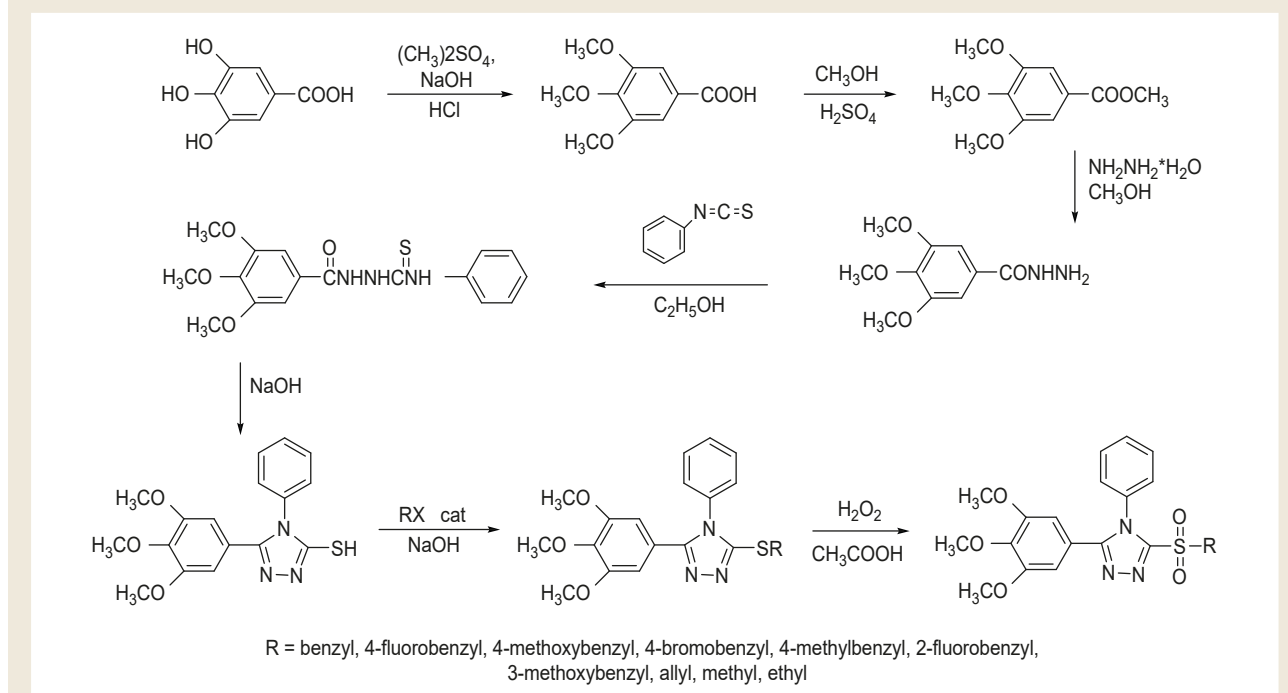


Fig. 8. Synthesis scheme of 3-(arylsulfonyl)-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole.

be further expanded through reaction with amides of chloroethanoic acid, as suggested by the authors, which undergo electrophilic substitution at the sulfur atom.

Having conducted an analysis of the pharmaceutical market, it can be inferred that approximately 50 % of all molecules constituting the foundation of pharmaceutical preparations used in drug therapy are introduced in the form of salts. This observation underscores the significance of developing new salts based on 1,2,4-triazole, making it an integral aspect of the pharmaceutical industry. Consequently, the synthesis of both organic and inorganic salts derived from the aforementioned heterocycle remains relevant [24,25,26,27,28,29].

One notable study involves the synthesis and investigation of physical-chemical and biologically active salts derived from 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-

ylthio)ethanoic acid [30]. In this research, 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-thio)ethanoic acid was selected as the starting material to synthesize salts with both organic and inorganic bases (Fig. 7).

The structural characterization of the compounds was confirmed through elemental analysis, ¹H NMR spectroscopy, and individuality was established via chromatography-mass-spectrometry studies. Interestingly, the highest yields of salt products were observed when water was utilized as a solvent.

Another group of Chinese scientists [31] delved into the synthesis methods of 3-R-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazoles. They utilized 4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thione as the starting material for synthesizing the aforementioned compounds. The synthesized compound underwent conversion into

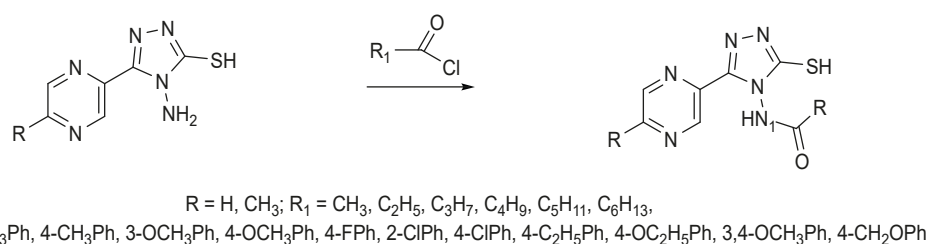


Fig. 9. Synthesis scheme of *N*-(3-thio-5-aryl-[1,2,4]triazole-4-yl)amides.

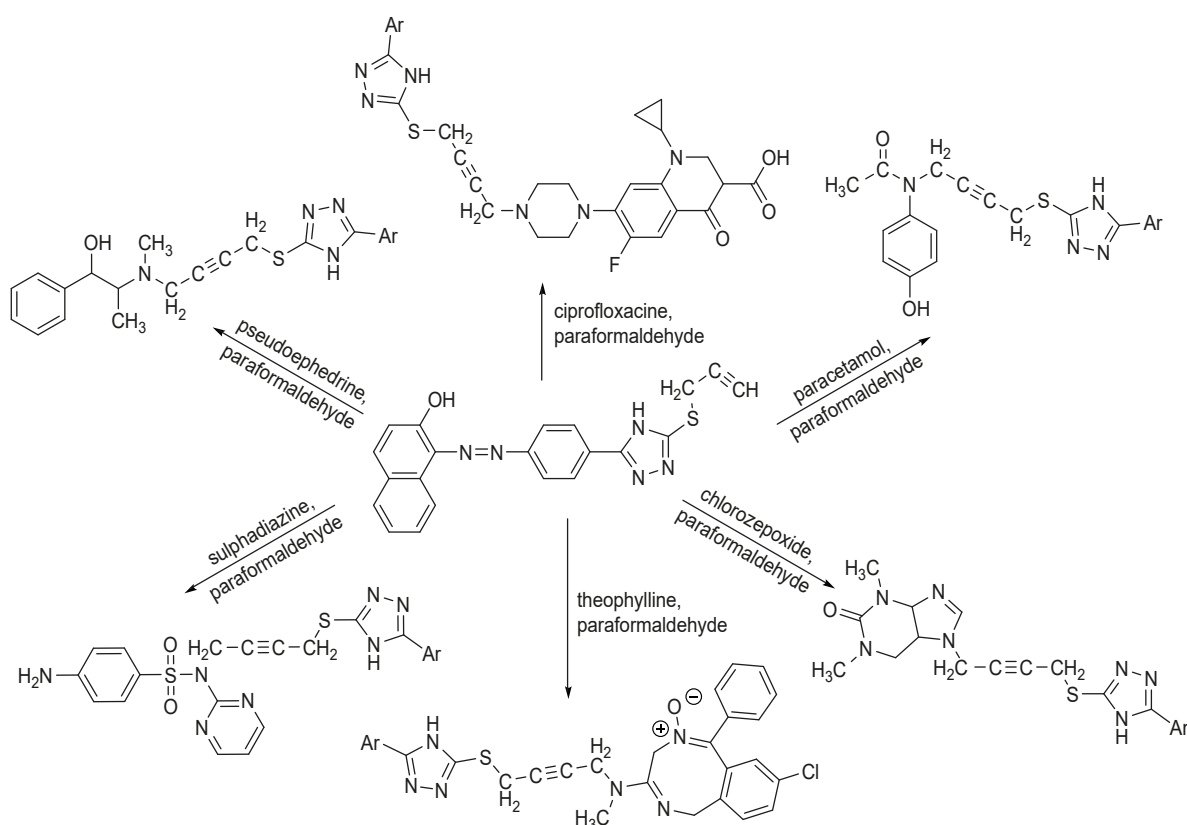


Fig. 10. Synthesis scheme of derivatives of 1-((4-(5-(prop-2-yn-1-ylthio)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)phenyl)diazenyl)naphthalen-2-ol.

thioether through thioesterification reaction with halogenides (RX). In the final stage, a mixture of ethanoic acid and 30 % H₂O₂ solution was added to 3-(R-methylthio)-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole, resulting in the formation of 3-(arylsulfonyl)-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole (Fig. 8).

The structures of all compounds were confirmed through IR spectrometry, ¹H NMR spectroscopy, and elemental analysis. Additionally, 3-(3-methoxybenzylsulfonyl)-4-phenyl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazole underwent detailed investigation through X-ray crystallography [31].

A similar synthesis of (3-(alkylsulfonyl)-4-R-1,2,4-triazole-5-yl)(phenyl)methanol was conducted by scientists at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University [32].

To broaden the scope of the search for pharmacologically active substances, Indian scientists [33] synthesized *N*-(3-thio-5-aryl-[1,2,4]triazole-4-yl)acylamides. According to the authors, the reaction was conducted in dry 1,4-dioxane, with the gradual addition of carboxylic acid chloride to 4-amino-5-aryl-4H-[1,2,4]triazole-3-thione under stirring, followed by heating the reaction mixture for 10 hours. The progress of the reaction was monitored using thin-layer chromatography (Fig. 9).

Muhannad Musa Kareem introduced an original method for the Mannich reaction, as detailed in their publication [34], demonstrating the synthesis of new derivatives of 1,2,4-triazole. Mannich bases were obtained through the interaction of 1-((4-(5-(prop-2-yn-1-ylthio)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)phenyl)diazenyl)naphthalen-2-ol with paraformaldehyde and second-

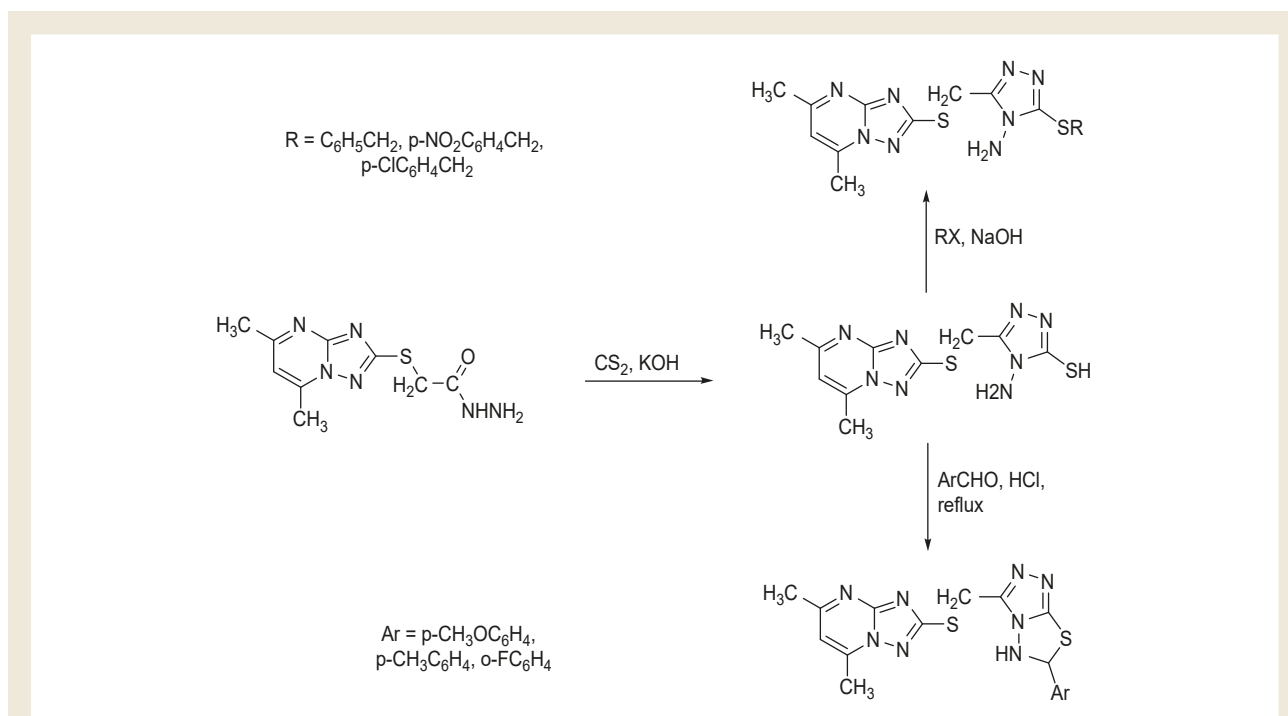


Fig. 11. Synthesis scheme of 5-alkylthio-4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole and 3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-6-aryl-5,6-dihydrogen-1,2,4-triazole-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole.

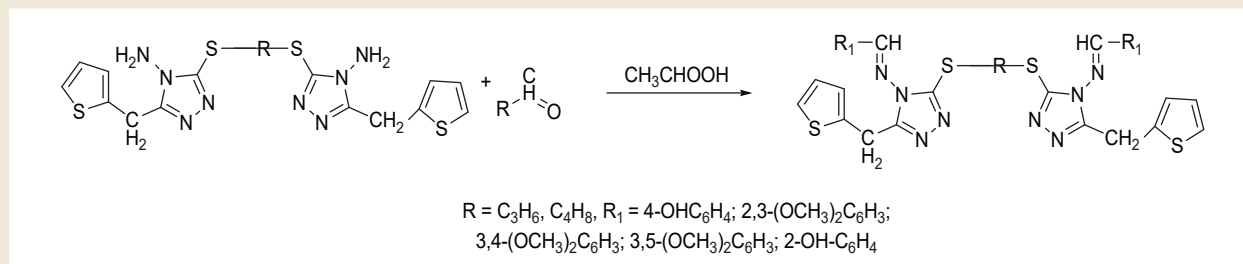


Fig. 12. Synthesis scheme of 5,5'-(alkyldiyl-bis(sulfandiyl))bis(N-(arylidene)-3-thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-4-amines.

ary amines of ciprofloxacin, paracetamol, pseudoephedrine, theophylline, chlorodisepoxide, and sulfadiazine (Fig. 10).

The synthesized substances underwent characterization using UV- and IR-spectroscopy, as well as 1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopy, to confirm their structural properties.

Chinese scientists [35] synthesized two compounds: 5-alkylthio-4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole and 3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-6-aryl-5,6-dihydrogen-1,2,4-triazole-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole, as shown in Fig. 11.

In the initial stage, 4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole-5-thiol was obtained by the interaction of potassium hydroxide and 2-thioacetohydrazide-5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine in ethanol. Then, carbon disulfide was added dropwise to the synthesized mixture for half an hour at room temperature, resulting in the formation of 4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole-5-thiol.

5-Alkylthio-4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole was obtained by reacting 4-amino-3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-1,2,4-triazole-5-thiol with benzylhalogen derivatives in methanol and hydroxide in water. On the other hand, 3-(5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine-2-thiomethyl)-6-aryl-5,6-dihydrogen-1,2,4-triazole-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazole was obtained by reacting the corresponding aromatic aldehyde with ethanol (Fig. 11). The target products were synthesized in high yields.

Continuing the discussion on methods for synthesizing 3-thio-1,2,4-triazole derivatives, let's delve into the synthesis of 5,5'-(alkyldiyl-bis(sulfandiyl))bis(N-(arylidene)-3-thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-4-amines. In this process, 5,5'-(alkyldiyl-bis(sulfandiyl))bis-3-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-4-amine served as the starting material. Subsequently, the authors heated the mixture in ethanoic acid, with the addition of aromatic aldehyde variants such as 2-hydroxybenzaldehyde, 4-hydroxybenzaldehyde, 2,3-dimethoxybenzaldehyde, 3,4-dimethoxybenzaldehyde,

and 3,5-dimethoxybenzaldehyde, to synthesize 5,5'-(alkylidyl-bis(sulfandiyl))bis(*N*-(arylidene)-3-thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-4-amines (Fig. 12) [36].

Conclusions

1. The analysis of the aforementioned publications highlights the promising search for new biologically active compounds among derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiones.

2. The chemistry of 1,2,4-triazole and its heterocyclic derivatives has garnered significant attention in recent years owing to their synthetic and biological relevance.

3. Many 1,2,4-triazole-3-thiones demonstrate a wide spectrum of biological activity with minimal toxicity. In a subsequent review, we will delve into a more detailed exploration of the various biological properties exhibited by these compounds.

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

Information about the authors:

Frolova Yu. S., PhD, Assistant of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3995-5088

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

ORCID ID: 0000-0003-3704-5539

Ihnatova T. V., PhD, Associate Professor, Dean of the Faculty of Health Care, Private Higher Educational Institution "Pylyp Orlyk International Classical University", Mykolaiv, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-7229-6715

Kaplaushenko T. M., PhD, Lecturer, Medical College of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-5092-3370

Відомості про авторів:

Фролова Ю. С., PhD, асистентка каф. фізикоїдної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

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

Ігнатова Т. В., PhD, доцент, декан факультету охорони здоров'я, Приватний заклад вищої освіти «Міжнародний класичний університет імені Пилипа Орлика», м. Миколаїв, Україна.

Каплаушенко Т. М., канд. мед. наук, викладач, Медичний фаховий коледж, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

- Samelyuk Y, Kaplaushenko A. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, Containing methoxyphenyl substituents at c5atoms, Their antipyretic activity, Propensity to adsorption and acute toxicity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014;6(5):1117-21. Available from: <https://www.jocpr.com/articles/synthesis-of-3alkylthiosulfo124triazoles-containing-methoxyphenyl-substituents-at-c5-atoms-their-antipyretic-activity-pr.pdf>
- Varynskyi BA, Scherback MA, Kaplaushenko AG, Yurchenko IA. The study of thione-thiol tautomerism of 4-amino-5-(4-nitrophenyl)-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazole-3-thione by HPLC-MS method. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2019;6(5):1342-50. Available from: <https://www.jocpr.com/articles/the-study-of-thionethiol-tautomerism-of-4amino54nitrophenyl-24dihydro3h124triazole3thione-by-hplcms-method.pdf>
- Safonov A. Derivatives of 3-(alkylthio)-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-4-amines as increasing efficiency substances. *Indonesian Journal of Pharmacy* 2018;29(3):167.
- Dovbnia D, Frolova Y, Kaplaushenko A. A study of hypoglycemic activity of acids and salts containing 1,2,4-triazole. *Ceska Slov Farm*. 2023;72(3):113-24. English.
- Shcherbina R. Microwave-assisted synthesis of some new derivatives of 4-substituted-3-(morpholinomethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-5-thioles. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi* 2019;43(3):220-9. doi: [10.33483/jfpau.533166](https://doi.org/10.33483/jfpau.533166)
- Ihnatova T, Kaplaushenko A, Frolova Y, Pryhlo E. Synthesis and antioxidant properties of some new 5-phenethyl-3-thio-1,2,4-triazoles. *Pharmacia*. 2020;68(1):129-33. doi: [10.3897/pharmacia.68.e53320](https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e53320)
- Safonov A. Method of synthesis novel *N*-substituted 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetohydrazides. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2020;44(2):242-52. doi: [10.33483/jfpau.580011](https://doi.org/10.33483/jfpau.580011)
- Shcherbina R, Panasenko O, Polonets O, Nedorezaniuk N, Duchenko M. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of ylidenhydrazides of 2-((4-*R*-5-*R*,-4*H*-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)
- Frolova Y, Kaplaushenko A, Sameliuk Y, Romanina D, Morozova L. Investigation of the antimicrobial and antifungal activities of some 1,2,4-triazole derivatives. *Ceska Slov Farm*. 2022;71(4):151-60. English.
- Toropin NV, Trush YV, Murashevich BV, Burmistrov KS. Synthesis of 1-(hydroxyphenyl)-3-aryl-5-mercapto-1,2,4-triazoles from arenalazine quinones. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2019;2:46-50. Available from: <http://vhht.dp.ua/wp-content/uploads/pdf/2018/2/Toropin.pdf>
- Hassan AA, Mohamed NK, Aly AA, Tawfeek HN, Bräse S, Nieger M. Eschenmoser-Coupling Reaction Furnishes Diazenyl-1,2,4-triazole-5(4*H*)-thione Derivatives. *ChemistrySelect*. 2019;4(2):465-8. doi: [10.1002/slct.201802870](https://doi.org/10.1002/slct.201802870)
- Akın Ş, Demir EA, Colak A, Kolcuoglu Y, Yildirim N, Bekircan O. Synthesis, biological activities and molecular docking studies of some novel 2,4,5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-one derivatives as potent tyrosinase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*. 2019;1175:280-6. doi: [10.1016/j.molstruc.2018.07.065](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.07.065)
- Dai J, Tian S, Yang X, Liu Z. Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4-triazoles: A review. *Front Chem*. 2022;10:891484. doi: [10.3389/fchem.2022.891484](https://doi.org/10.3389/fchem.2022.891484)
- Ameen DS, Hamdi MD, Khan AK. Synthesis and Biological Activities of Some 1,2,4-Triazole Derivatives: A Review. *Al Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences* 2022;22(3):65-81. doi: [10.32947/ajps.v22i3.890](https://doi.org/10.32947/ajps.v22i3.890)
- Guo MB, Yan ZZ, Wang X, Xu H, Guo C, Hou Z, et al. Design, synthesis and antifungal activities of novel triazole derivatives with selenium-containing hydrophobic side chains. *Bioorg Med Chem Lett*. 2022;78:129044. doi: [10.1016/j.bmcl.2022.129044](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2022.129044)
- Emami L, Sadeghian S, Mojaddami A, Khabnadideh S, Sakhteman A, Sadeghpour H, et al. Design, synthesis and evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives as promising anticancer agents. *BMC Chem*. 2022;16(1):91. doi: [10.1186/s13065-022-00887-x](https://doi.org/10.1186/s13065-022-00887-x)
- Wittine K, Stipković Babić M, Makuc D, Plavec J, Kraljević et al. Novel 1,2,4-triazole and imidazole derivatives of L-ascorbic and imino-ascorbic acid: synthesis, anti-HCV and antitumor activity evaluations. *Bioorg Med Chem*. 2012;20(11):3675-85. doi: [10.1016/j.bmc.2012.01.054](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.01.054)
- Almasirad A, Mousavi Z, Tajik M, Assarzadeh MJ, Shafiee A. Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of new methyl-imidazolyl-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Daru*. 2014;22(1):22. doi: [10.1186/2008-2231-22-22](https://doi.org/10.1186/2008-2231-22-22)
- Tariq S, Alam O, Amir M. Synthesis, anti-inflammatory, p38α MAP kinase inhibitory activities and molecular docking studies of quinoxaline derivatives containing triazole moiety. *Bioorg Chem*. 2018;76:343-58. doi: [10.1016/j.bioorg.2017.12.003](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.003)
- Bulut N, Kocyigit UM, Gecibesler IH, Dastan T, Karci H, Taslimi P, et al. Synthesis of some novel pyridine compounds containing bis-1,2,4-triazole/thiosemicarbazide moiety and investigation of their antioxidant properties, carbonic anhydrase, and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles. *J Biochem Mol Toxicol*. 2018;32(1). doi: [10.1002/jbt.22006](https://doi.org/10.1002/jbt.22006)
- Bekircan O, Ülker S, Menteşe E. Synthesis of some novel heterocyclic compounds derived from 2-[3-(4-chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl]acetohydrazide and investigation of their

- lipase and α -glucosidase inhibition. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2015;30(6):1002-9. doi: [10.3109/14756366.2014.1003213](https://doi.org/10.3109/14756366.2014.1003213)
22. Karaca Gençer H, Acar Çevik U, Levent S, Sağlık BN, Korkut B, Özkay Y, et al. New Benzimidazole-1,2,4-Triazole Hybrid Compounds: Synthesis, Anticandidal Activity and Cytotoxicity Evaluation. *Molecules*. 2017;22(4):507. doi: [10.3390/molecules22040507](https://doi.org/10.3390/molecules22040507)
 23. Holota S, Shylych Y, Derkach H, Karpenko O, Gzella A, Lesyk R. Synthesis of 4-(2h-[1,2,4]-triazol-5-ylsulfanyl)-1,2-dihydropyrazol-3-one via ring-switching hydrazinolysis of 5-ethoxymethylidenethiazolo [3,2-b][1,2,4]triazol-6-one. *MolBank*. 2018;2018(4). doi: [10.3390/M1022](https://doi.org/10.3390/M1022)
 24. Rud AM, Kaplaushenko AG, Yurchenko IO. Synthesis, physical and chemical properties of 2-((5-(hydroxy(phenyl)methyl)-4R-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acids and its salts. *Zaporozhye medical journal* 2018;20(1):105-9. doi: [10.14739/2310-1210.2018.1.122126](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.1.122126)
 25. Pruglo Y. Synthesis, physical and chemical properties and anxiolytic activity OF 2-(4-(R-arylidenamino)-5-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-YL) thio)acetic acids and their salts. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018;(3):19-25. doi: [10.15587/2519-4852.2018.135786](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2018.135786)
 26. 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](https://doi.org/10.2478/cipms-2019-0001)
 27. Shcherbyna R. An investigation of the pharmacokinetics and potential metabolites of potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate on rats. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2020;44(2):233-41. doi: [10.33483/jfpau.681611](https://doi.org/10.33483/jfpau.681611)
 28. Safonov A, Demianenko D, Vashchuk Y, Larianovska Y, Lytkin D, Shcherbyna R, et al. Histological study of a corrective influence of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate on the state of rats liver under conditions of acute immobilization stress. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2022;46(2):330-41. doi: [10.33483/jfpau.1012893](https://doi.org/10.33483/jfpau.1012893)
 29. Pogrebnoi S, Radul O, Stingaci E, Lupascu L, Valica V, Uncu L, et al. The Synthesis of Triazolium Salts as Antifungal Agents: A Biological and In Silico Evaluation. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(5):588. doi: [10.3390/antibiotics11050588](https://doi.org/10.3390/antibiotics11050588)
 30. Pruglo YS. [Synthesis and study of physical-chemical properties of salts of 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2018;11(1):12-6. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2018.1.123588](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123588)
 31. Xu W, Song B, Bhadury P, Song Y, Hu D. Synthesis and crystal structure of novel sulfone derivatives containing 1,2,4-triazole moieties. *Molecules*. 2010;15(2):766-79. doi: [10.3390/molecules15020766](https://doi.org/10.3390/molecules15020766)
 32. Rud AM, Kaplaushenko AG, Sameliuk YG. [Synthesis of new alkylsulfonyl(Sulfinyl)-1,2,4-triazole derivatives based on (3-(Alkylthio)-4-R-1,2,4-thiazole-5-yl)(phenyl)methanol's]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2018;11(1):23-8. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2018.1.123641](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123641)
 33. Siddoju K, Ega JK. Stepwise synthesis and characterization of newly synthesized 1,2,4-triazole derivatives. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*. 2018;8(1):139-46. Available from: <https://www.ijpcbs.com/articles/stepwise-synthesis-and-characterization-of-newly-synthesized-124triazole-derivatives.pdf>
 34. Kareem MM. Synthesis, characterization and study the physical properties of new 1,2,4-Triazoles Mannich-Base derivatives. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2018;454(1):012092. doi: [10.1088/1757-899X/454/1/012092](https://doi.org/10.1088/1757-899X/454/1/012092)
 35. Liu ZM, Chen Q, Chen CN, Tu HY, Yang GF. Syntheses of diheterocyclic compounds based on 2-thioacetohydrazide-5,7-dimethyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]-pyrimidine. *Molecules*. 2008;13(6):1353-60. doi: [10.3390/molecules13061353](https://doi.org/10.3390/molecules13061353)
 36. Safonov AA. Synthesis of novel 5,5'-(R-diylbis(sulfanediy))bis(3-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-4-amines). *Ukraïns'kij biofarmaceutičnij žurnal*. 2018;0(1):51-4. doi: [10.24959/ubphj.18.154](https://doi.org/10.24959/ubphj.18.154)



Протиракові властивості похідних 1,2,4-тріазолу (огляд літератури)

I. В. Бушуєва^{ID}*^{A,E,F}, М. В. Парченко^{ID}^{A,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

Нині однією з головних причин смерті в усьому світі залишаються онкологічні захворювання. Статистичні дані свідчать, що понад 130 тисяч людей в Україні щороку дізнаються про цей діагноз. Рак може уражати будь-які органи, з часом – увесь організм. У більшості випадків онкозахворювання – це пухлини, які уражають епітеліальні, слизові, м'язові, жирові, кісткові тканини. Також процеси, пов'язані зі злоякісними утвореннями, можуть перебігати у крові та лімфі. Головний механізм, який запускає процес формування новоутворень, – порушення росту та, відповідно, поділу клітин. Вони починають неконтрольовано зростати, розмножуватися, а також мігрувати, поширюючись на сусідні тканинні структури, згодом перероджуються в атипові (злоякісні). Рак є однією з найбільш небезпечних для життя хвороб. Відомості наукової літератури свідчать, що понад 90 % хворих на рак помирають через хронічні метастази. Терапія раку полягає у використанні препаратів, які блокують ріст і поширення ракових клітин, впливаючи на певні молекулярні структури, які беруть участь у зростанні, прогресуванні та поширенні раку. Різноманітність використання засобів для лікування раку, а саме гормональна терапія, застосування інгібіторів ангіогенезу та індукторів апоптозу, надала науковцям різні варіанти пошуку ефективних засобів для боротьби з цією хворобою.

Мета роботи – аналіз і систематизація нових даних щодо протиракової активності похідних 1,2,4-тріазолу та визначення за результатами аналізу найперспективніших напрямів подальших наукових досліджень.

Матеріали і методи. Проаналізували дані з джерел фахової літератури, що включені до різних наукометричних баз (Scopus, Web of Science та PubMed). Використано методи аналізу, інформаційного пошуку, бібліосемантичний, описовий, узагальнення. Матеріал для дослідження – публікації, які містять інформацію щодо перспективного арсеналу нових біологічно активних сполук – похідних 1,2,4-тріазолу саме з протираковими властивостями.

Результати. У результаті аналізу відомостей фахової літератури схарактеризували й узагальнили перелік лікарських препаратів – похідних 1,2,4-тріазолів із протипухлинною активністю. На підставі вивчення доступної інформації та проведення інформаційно-патентного пошуку встановили, що ринок України є недостатньо насиченим 1,2,4-тріазолвмісними препаратами з протираковою активністю саме вітчизняного виробництва. Визначили, що розроблення нових ефективних лікарських засобів на основі 1,2,4-тріазолу та потенційних лікарських засобів зі спрямованою протираковою активністю потребує систематичного підходу під час і синтетичних випробувань, і скринінгу нових сполук для наступної структурної оптимізації молекул.

Висновки. Аналіз найновішої наукової літератури, що присвячена вивченню протиракової активності похідних 1,2,4-тріазолу, підтверджує перспективність продовження досліджень у цьому напрямі. Численні публікації вказують на можливість постійного вдосконалення молекул щодо наявності протиракової дії. Вітчизняні й зарубіжні автори аргументовано підтвердили перспективність наукового напрямку зі створення нових оригінальних ліків для терапії хворих із різними онкопатологіями.

Ключові слова: похідні 1,2,4-тріазолу, протиракова активність, токсичність, біологічна дія, онкотерапія, лікарські препарати.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2(45). С. 197-201

Anticancer properties of 1,2,4-triazole derivatives (literature review)

I. V. Bushuieva, M. V. Parchenko

Cancer is still one of the leading causes of death worldwide. Statistical data show that more than 130,000 people in Ukraine receive this diagnosis as a sentence every year. Cancer can affect any organ and eventually the whole body. In most cases, cancer is a tumor affecting epithelial, mucous, muscle, fat, and bone tissues. Also, processes related to malignant formations can occur in the blood and lymph. The main mechanism that triggers the process of formation of neoplasms is a violation of growth and, accordingly, cell division. They begin to grow uncontrollably, multiply, and can also migrate, spreading to nearby tissue structures, and later degenerate into atypical (malignant) ones. Cancer is one of the most life-threatening diseases. Literature data show that more than 90 % of cancer patients die due to chronic metastases. Cancer therapy involves the use of drugs that block the growth and spread of cancer cells by affecting certain molecular structures involved in the growth, progression, and spread of cancer. The diversity of the use of means for cancer therapy,

ARTICLE INFO



UDC 615.31:547.792:615.277.015.11
DOI: 10.14739/2409-2932.2024.2.299477

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2):197-201

Keywords: triazoles, anticancer activity, toxicity, biological action, oncology, therapy, drugs.

*E-mail: valery999@ukr.net

Received: 06.03.2024 // Revised: 04.04.2024 // Accepted: 02.04.2024

namely, hormone therapy, the use of angiogenesis inhibitors and apoptosis inducers, has provided scientists with various options for finding effective means to fight this disease.

Aim. The aim of the work is the analysis and systematization of new data on the anticancer activity of 1,2,4-triazole derivatives and the selection of the most promising directions for further scientific research based on the results of the analysis.

Materials and methods. The study employed various methods, including analysis, information search, bibliosemantic analysis, descriptive techniques, and generalization. Research materials primarily comprised literary sources containing information on the promising array of new biologically active compounds, particularly 1,2,4-triazole derivatives, known for their targeted anticancer properties.

Results. A literature search was carried out, 1,2,4-triazole derivatives with antitumor activity were analysed, characterized and summarized. Based on the study of available information and conducting an information and patent search, it was established that the market of Ukraine is insufficiently saturated with 1,2,4-triazole-containing drugs with anticancer activity of domestic production. It was determined that the development of new effective drugs based on 1,2,4-triazole and potential drugs with clearly directed anticancer activity requires a systematic approach both in conducting synthetic tests and screening new compounds for further structural optimization of molecules.

Conclusions. The analysis of scientific literature in recent years devoted to the study of the anticancer activity of 1,2,4-triazole derivatives convincingly proves the prospect of further research in this direction. Numerous publications indicate the possibility of constant improvement of molecules with regard to the presence of anticancer activity. Domestic and foreign authors have clearly and argumentatively proven the perspective of the scientific direction for the creation of new original drugs to combat various oncopathologies.

Keywords: triazoles, anticancer activity, toxicity, biological action, oncology, therapy, drugs.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(2): 197-201

Статистичні дані свідчать, що в понад 130 тисяч людей в Україні щороку встановлюють діагноз рак. Рак може уражати будь-які органи, з часом – увесь організм. У більшості випадків онкозахворювання – це пухлини, що уражають епітеліальні, слизові, м'язові, жирові, кісткові тканини. Також процеси, пов'язані зі злоякісними утвореннями, можуть перебігати у крові та лімфі. Головний механізм, який запускає процес формування новоутворень, – порушення росту та, відповідно, поділу клітин. Вони починають неконтрольовано зростати, розмножуватися, а також мігрувати, поширюючись на сусідні тканинні структури, згодом перероджуються в атипів (злоякісні).

Рак є однією з найбільш небезпечних для життя хвороб. Відомості наукової літератури свідчать, що понад 90 % хворих на рак помирають через хронічні метастази. Терапія раку полягає у використанні препаратів, які блокують ріст і поширення ракових клітин, впливаючи на певні молекулярні структури, які беруть участь у зростанні, прогресуванні та поширенні раку. Різноманітність використання засобів для лікування раку, а саме гормональна терапія, застосування інгібіторів ангиогенезу та індукторів апоптозу, надала науковцям різні варіанти пошуку ефективних засобів для боротьби з цією хворобою.

Гетероциклічні сполуки є найбільш поширеними серед органічних речовин. Усі вони мають природне або синтетичне походження і відіграють надзвичайно важливу роль у життєдіяльності людини. Науково доведеною нині є висока біологічна активність похідних 1,2,4-тріазолу [1,2]. Крім того, їх застосовують як пластифікатори пластмас, а також як антикорозійні засоби, присадки до різних видів палив, засоби захисту рослин тощо.

Тривалий час гетероциклічна система 1,2,4-тріазолу є своєрідним «фундаментом» для створення низки нових біологічно активних сполук [3,4]. У багатьох наукових публікаціях показано, що похідні 1,2,4-тріазолу характеризуються різними видами біологічних властивостей, а їхня токсичність мінімальна [5]. Ця тема є актуальною

та заслуговує на увагу у зв'язку з постійною потребою у створенні нових ефективних ліків.

Актуальним завданням на шляху розвитку сучасної фармацевтичної науки залишається створення ефективних ліків для боротьби з різними онкопатологіями [6]. Тому, на нашу думку, досить перспективними і своєчасними є спроби учених розширювати арсенал нових біологічно активних сполук – похідних 1,2,4-тріазолу саме з протираковими властивостями. Це дасть змогу ефективно протидіяти поширенню раку [7].

Наукові публікації за останні роки свідчать про накопичення достатнього інформаційного матеріалу щодо нових похідних 1,2,4-тріазолу, які характеризуються протираковою дією.

Мета роботи

Аналіз і систематизація нових даних щодо протиракової активності похідних 1,2,4-тріазолу та визначення за результатами аналізу найперспективніших напрямів подальших наукових досліджень.

Матеріали і методи дослідження

Проаналізували дані з джерел фахової літератури, що включені до різних наукометричних баз (Scopus, Web of Science та PubMed). Використано методи аналізу, інформаційного пошуку, бібліосемантичний, описовий, узагальнення. Матеріал для дослідження – публікації, які містять інформацію щодо перспективного арсеналу нових біологічно активних сполук – похідних 1,2,4-тріазолу саме з протираковими властивостями.

Нині однією з головних причин смерті в усьому світі залишаються онкологічні захворювання. Багато дослідників працюють над дизайном і розробкою ліків на гетероциклічній основі, здатних лікувати рак на різних стадіях [8]. Аналіз наукової літератури доводить, що гібридні 1,2,4-тріазоли мають широкий біологічний потенціал (особливо сильну протиракову активність)

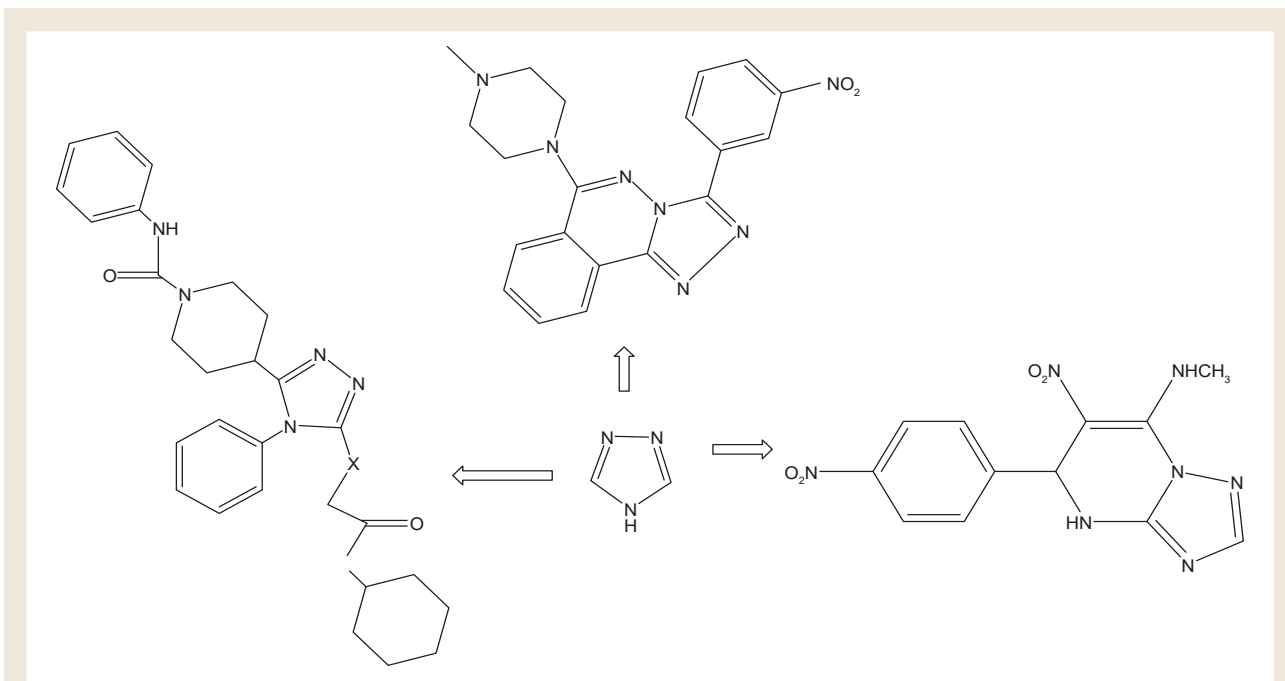


Рис. 1. Структурні молекули деяких похідних 1,2,4-тріазолу, що мають протиракову активність.

порівняно з відповідними моноциклічними сполуками [9]. Похідні 1,2,4-тріазолу, поєднанні з іншими гетероциклічними каркасами, як-от піримідином, піридином, піперидином, хіноксаліном, хіназоліном, тіадіазином, індолом тощо, виявляють високі показники протиракової активності (рис. 1).

У науковій статті автори обґрунтували та змістовно довели протиракову активність деяких нових похідних 1,2,4-тріазолу на основі 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифеніл-2H-тетразолію броміду щодо ракових клітин *Hep-G2* і *MCF-7* (Hepatocellular Carcinoma печінки та Michigan Cancer Foundation-7) [10]. При цьому не виявили цитотоксичності цих сполук.

Необхідність розроблення нових протиракових молекул не викликає сумнівів. Атоми Нітрогену, які входять до складу гетероциклічних сполук природного або синтетичного походження, виявляють потужні протиракові властивості [11]. Завдяки дипольному характеру, здатності утворювати водневі зв'язки, розчинності та відносній стабільності 1,2,4-тріазол є особливо ефективним фармакофором, який взаємодіє із біологічними рецепторами з досить високою спорідненістю [12]. Автори протестували серію нових похідних 1,2,4-тріазолу проти трьох різних ліній ракових клітин людини, включаючи *PANCI* (рак підшлункової залози), *DUI45* (рак передміхурової залози), *MCF7* (рак молочної залози) та одну клітинну лінію фібробластів (*HDF*) [12,13,14]. Встановлено, що сполуки знижували життєздатність клітин раку підшлункової залози та простати. Аналіз клітинного циклу показав, що вплив речовин на ріст ракових клітин здебільшого пов'язаний із зупинкою клітинного циклу в S-фазі [12].

Мирко І. І. та співавт. дослідили протиракову активність похідних 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазину, що

здатні за механізмом дії ініціювати різні шляхи загибелі пухлинних клітин [15]. Автори встановили, що синтезовані молекули мають протипухлинну дію різного рівня. Найчутливішими виявились клітини меланоми *MDA-MB-435* і *SK-MEL-2*, раку нирок *A498* і *RXF 393*, раку ЦНС *SNB-75* і недрібноклітинного раку легень *NCI-H522*. Інша робота присвячена пошуку сполук із протипухлинними властивостями серед похідних тіазоло[3,2-b][1,2,4]тріазол-6-онів [16]. Деякі серед них характеризуються відмінними протипухлинними властивостями при 10 мкМ.

Бетулін – пентациклічний тритерпен, отриманий із березової кори, характеризується широким спектром біологічної дії. Науковці оцінили *in vitro* протипухлинні властивості сполук на основі 1,2,4-тріазолу та діацетилбетуліну [17]. Сполуки досліджено з використанням трьох ліній ракових клітин: *A375* (меланома), *MCF-7* (рак молочної залози), *HT-29* (колоректальний рак). За результатами аналізу активності визначили ряд перспективних речовин. Карпенко Ю. і співавт. вивчали вплив похідних 5-(5-бромфуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-тріазол-3-тіолу та 5-тіофен-(3-ілметил)-4R-1,2,4-тріазол-3-тіолу на клітини раку простати PC3 [18]. Також доведено їхню інгібувальну активність щодо ферментів ацетилхолінестерази (AChE) і бутирилхолінестерази (BChE). Деякі сполуки мали значну цитотоксичну активність проти клітин раку простати PC3, хоча їхній вплив на життєздатність нормальних клітин простати був обмеженим. Це свідчить про їхній вибірковий потенціал націлювання на клітини раку передміхурової залози. Інші науковці за результатами комплексного дослідження нових похідних 1,2,4-тріазолу визначили три перспективні сполуки. Результати вивчення їхніх протипухлинних властивостей *in vitro* показали,

що ці сполуки мають високу протиракову активність щодо клітинних ліній підшлункової залози [19].

Стероїди – біомолекулярні структури, що відіграють ключову роль у різних фізіологічних процесах. Протягом останніх десятиліть здійснили численні дослідження сполук, утворених поєднанням стероїдів і гетероциклів [20,21]. Науковці запропонували оригінальний метод синтезу кон'югантів стероїдів і тріазолу, а також вивчення їхньої протиракової активності щодо різних ліній ракових клітин [22].

Відомо, що рак – глобальна проблема та основна причина смертності в усьому світі. Це злоякісне захворювання характеризується швидким і неконтрольованим розмноженням клітин [23]. Як стверджують А. Semukšnytė et al., їм вдалось синтезувати ряд нових перспективних сполук, що вибірково діють на ракові клітини меланоми [24]. N¹-(2-Оксоіндолін-3-іліден)-2-((4-феніл-5-(2-(феніламіно)етил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетогідрозид, N¹-((1H-пірол-2-іл)метил)-2-((4-феніл-5-(2-(феніламіно)етил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетогідрозид і N¹-(2-гідрокси-5-нітробензиліден)-2-((4-феніл-5-(2-(феніламіно)етил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетогідрозид виявилися найактивнішими проти всіх ракових клітин і повністю пригнічували їхню міграцію.

З-поміж онкозахворювань рак легенів небезпечний тим, що на ранніх стадіях його складно діагностувати: він має майже безсимптомний перебіг, поки хвороба не прогресує [25]. Науковці стверджують, що їм вдалось синтезувати ряд похідних 2-[[5-[(4-амінофеноксид)метил]-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл]тіо]-N-(арил)ацетамідів, які виявились активними проти раку легенів людини (A549) і клітинних ліній фібробластів ембріона миші (NIH/3T3) [25].

Перспективними протираковими агентами також є конденсовані похідні акридину і 1,2,4-тріазолу [26]. Вивчення механізмів і способів зв'язування цих сполук з мішенню ДНК показало, що ці речовини мають інтеркальоване розміщення в активних центрах і стабільні взаємодії, подібні до контрольного ліганду. Отже, вони можуть діяти за механізмом відомих ліків [26]. Розроблено оригінальні методи синтезу нових похідних 1,2,4-тріазолу та досліджено їхню протиракову активність [27]. Три нові сполуки мали вибірково цитотоксичність проти клітинної лінії PC-93 та HBT-55. Rathod B. & Kumar K. здійснили системний аналіз інформації щодо наявності протиракової активності у деяких похідних 1,2,4-тріазолу [9]. Доведено, що поєднання 1,2,4-тріазолу з іншими поліфункціональними замісниками розширює арсенал протиракових сполук. В іншій оглядовій статті описано місце 1,2,4-тріазолу під час створення протиракових молекул різних типів [28]. Хімічна модифікація сполук призводить до утворення речовин із протираковою активністю на основі нуклеозидів, інгібіторів кіназ, модуляторів тубуліну, інгібіторів ароматази та стероїдної сульфатази, інгібіторів метіонінамінопептидази, інгібіторів танкірази, а також протиракових агентів на основі комплексів металів [28].

Lei Y. et al. синтезували ряд нових протипухлинних нуклеозидів на основі 1,2,4-тріазолнуклеозидів і 1-((2-гідроксиетокси)метил)-5-(фенілтіо)-1H-1,2,4-трі-

азол-3-карбоксаміду [29]. Оригінальний метод синтезу нових біс-(1,2,4-тріазол-3-тіонів), використовуючи 4-аміно-3-трифторметил-5-меркапто-1,2,4-тріазол та відповідні N-арил-2-оксопропангідрозидоїлхлориди, пропонують іноземні вчені [30]. Вони визначили ряд сполук, що виявились найактивнішими інгібіторами проти HEPG-2 та проти клітинних ліній HCT. У роботі Bekircan O. et al. [31] наведено результати вивчення протипухлинної дії похідних 1,2,4-тріазолу на культури з 60 клітинних ліній, отриманих із дев'яти типів раку (недрібноклітинного раку легенів, товстої кишки, молочної залози, яєчників, лейкемії, нирок, меланоми, передміхурової залози та ЦНС) при фіксованій дозі 10 мкМ.

Отже, розроблення нових ефективних речовин на основі 1,2,4-тріазолу та потенційних лікарських препаратів із незначною побічною дією та чітко спрямованою протираковою активністю потребує систематичного підходу під час і синтетичних випробувань, і скринінгу нових сполук для наступної структурної оптимізації молекул.

Висновки

1. Аналіз найновішої наукової літератури, що присвячена вивченню протиракової активності похідних 1,2,4-тріазолу, підтверджує перспективність продовження досліджень у цьому напрямі.

2. Численні публікації вказують на можливість постійного вдосконалення молекул щодо наявності протиракової дії.

3. Вітчизняні й зарубіжні автори аргументовано підтвердили перспективність наукового напрямку зі створення нових оригінальних ліків для терапії хворих із різними онкопатологіями.

Перспективи подальших досліджень. Результати роботи дали можливість спланувати наступні дослідження у цьому напрямі.

Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету на тему: «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», держреєстрація № 0123U103937 (2023–2028).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Бушуєва І. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5336-3900

Парченко М. В., аспірант каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-7380-040X

Information about the authors:

Bushuieva I. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Parchenko M. V., PhD-student of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Parchenko VV. [Synthesis, transformation, physico-chemical and biological properties in a number of 5-furyl substituted 1,2,4-triazol-3-thiones] [dissertation on the Internet]. Zaporizhzhia: Zaporizhzhia State Medical University; 2014 [cited 2024 Apr 1]. Available from: <https://nrat.ukrintei.ua/searchdoc/0514U000208/>
2. Danilchenko DM, Parchenko VV, Panasenko OI, Knysh YH. [Antifatigue action of the 5-(furan-2-yl, 2-methylfuran-3-yl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thione alkyl derivatives]. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 2016;0(2):92-7. doi: [10.32352/0367-3057.2.16.05](https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.16.05)
3. Parchenko VV. Antiviral activity of 1,2,4-triazole derivatives. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 2011;(3):49-53. Available from: <https://pharmj.org.ua/index.php/journal/article/view/652>
4. Zazharskyi V, Bigdan O, Parchenko V, Parchenko M, Fotina T, Davydenko P, et al. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4-Triazoles. *Arch Pharm Pract*. 2021;12(2):60-5. doi: [10.51847/RbJb3waUBB](https://doi.org/10.51847/RbJb3waUBB)
5. Danilchenko DM, Parchenko VV. Antimicrobial activity of new 5-(furan-2-yl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Zaporozhye medical journal*. 2017;19(1):105-7. doi: [10.14739/2310-1210.2017.1.91735](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.1.91735)
6. Kumar R, Kamal R, Kumar V, Prabhakar Chetti. Single crystal XRD, spectroscopic, DFT studies and synthesis of [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidines. *Chemical data collections*. 2022;42(42):100949-9. doi: [10.1016/j.cdc.2022.100949](https://doi.org/10.1016/j.cdc.2022.100949)
7. Emami L, Sadeghian S, Mojaddami A, Khabnadideh S, Sakhteman A, Sadeghpour H, et al. Design, synthesis and evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives as promising anticancer agents. *BMC Chem*. 2022;16(1):91. doi: [10.1186/s13065-022-00887-x](https://doi.org/10.1186/s13065-022-00887-x)
8. Sachdeva H, Saquib M, Tanwar K. Design and Development of Triazole Derivatives as Prospective Anticancer Agents: A Review. *Anticancer Agents Med Chem*. 2022;22(19):3269-79. doi: [10.2174/1871520622666220412133112](https://doi.org/10.2174/1871520622666220412133112)
9. Rathod B, Kumar K. Synthetic and Medicinal Perspective of 1,2,4-Triazole as Anticancer Agents. *Chem Biodivers*. 2022;19(11):e202200679. doi: [10.1002/cbdv.202200679](https://doi.org/10.1002/cbdv.202200679)
10. Razaat MS, Karatepe A, Keser S, İnci Ş, Dalkılıç S. In vitro Biological Evaluation of 1,2,4-triazole Mannich Base. *BioMed Target Journal*. 2023;1(2):22-30. doi: [10.59786/bmtj.123](https://doi.org/10.59786/bmtj.123)
11. Alzebari AM, Qadir AM, Razaat MS, Salihi A. Therapeutic Potential of Heat Shock Protein 90 Inhibitors, Geldanamycin, and Analog Compounds in Precision Cancer Therapy. *BioMed Target Journal*. 2023;1(2):2-21. doi: [10.59786/bmtj.122](https://doi.org/10.59786/bmtj.122)
12. Yildırım S, Ayvaz A, Mermer A, Kocabaş F. Development of novel 1,2,4-triazole containing compounds with anticancer and potent anti-CB1 activity. *J Biomol Struct Dyn*. 2023 Jul 27:1-12. doi: [10.1080/07391102.2023.2239909](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2239909)
13. Milošev MZ, Jakovljević K, Joksović MD, Stanojković T, Matić IZ, Perović M, et al. Mannich bases of 1,2,4-triazole-3-thione containing adamantane moiety: Synthesis, preliminary anticancer evaluation, and molecular modeling studies. *Chem Biol Drug Des*. 2017;89(6):943-52. doi: [10.1111/cbdd.12920](https://doi.org/10.1111/cbdd.12920)
14. Tugrak M, Gul HI, Bandow K, Sakagami H, Gulcin I, Ozkay Y, et al. Synthesis and biological evaluation of some new mono Mannich bases with piperazines as possible anticancer agents and carbonic anhydrase inhibitors. *Bioorg Chem*. 2019;90:103095. doi: [10.1016/j.bioorg.2019.103095](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103095)
15. Myrko II, Chaban TI, Ohurtsov VV, Drapak IV, Matiichuk VS. [Synthesis and study of the anticancer activity of some new 7H-[1,2,4]triazolo [3,4-b][1,3,4]thiadiazines]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2021;14(3):320-7. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2021.3.240361](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.240361)
16. Holota S, Komykhov S, Sysak S, Gzella A, Cherkas A, Lesyk R. Synthesis, Characterization and In Vitro Evaluation of Novel 5-Ene-thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole-6(5H)-ones as Possible Anticancer Agents. *Molecules*. 2021;26(4):1162. doi: [10.3390/molecules26041162](https://doi.org/10.3390/molecules26041162)
17. Prodea A, Milan A, Mioc M, Mioc A, Oprean C, Racoviceanu R, et al. Novel Betulin-1,2,4-Triazole Derivatives Promote In Vitro Dose-Dependent Anticancer Cytotoxicity. *Processes*. 2024;12:24. doi: [10.3390/pr12010024](https://doi.org/10.3390/pr12010024)
18. Karpenko Y, Kusdemir G, Parchenko V, Tüzün B, Taslimi P, Karatas OF, et al. A biochemistry-oriented drug design: synthesis, anticancer activity, enzymes inhibition, molecular docking studies of novel 1,2,4-triazole derivatives. *J Biomol Struct Dyn*. 2024;42(3):1220-36. doi: [10.1080/07391102.2023.2253906](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2253906)
19. Harshitha T, Vinay Kumar T, Vineetha T. In silico characterization, molecular docking, and in vitro evaluation of triazole derivatives as potential anticancer agents. *Asian J Pharm Clin Res* 2021;14:22-8. doi: [10.22159/ajpcr.2021.v14i2.40053](https://doi.org/10.22159/ajpcr.2021.v14i2.40053)
20. Bai C, Schmidt A, Freedman LP. Steroid hormone receptors and drug discovery: therapeutic opportunities and assay designs. *Assay Drug Dev Technol*. 2003;1(6):843-52. doi: [10.1089/154065803772613471](https://doi.org/10.1089/154065803772613471)
21. McDonnell DP, Clevenger B, Dana S, Santiso-Miere D, Tzukerman MT, Gleeson MA. The mechanism of action of steroid hormones: a new twist to an old tale. *J Clin Pharmacol*. 1993;33(12):1165-72. doi: [10.1002/j.1552-4604.1993.tb03916.x](https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1993.tb03916.x)
22. Agarwal DS, Sakhuja R, Beteck RM, Legoaibe LJ. Steroid-triazole conjugates: A brief overview of synthesis and their application as anticancer agents. *Steroids*. 2023;197:109258. doi: [10.1016/j.steroids.2023.109258](https://doi.org/10.1016/j.steroids.2023.109258)
23. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. *Cancer Statistics, 2021*. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(1):7-33. doi: [10.3322/caac.21654](https://doi.org/10.3322/caac.21654)
24. Šermukšnytė A, Kantminienė K, Jonuškienė I, Tumosienė I, Petrikaitė V. The Effect of 1,2,4-Triazole-3-thiol Derivatives Bearing Hydrazono Moiety on Cancer Cell Migration and Growth of Melanoma, Breast, and Pancreatic Cancer Spheroids. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(8):1026. doi: [10.3390/ph15081026](https://doi.org/10.3390/ph15081026)
25. Yurttaş L, Evren AE, Kubilay A, Temel HE, Çiftçi GA. 3,4,5-Trisubstituted-1,2,4-triazole Derivatives as Antiproliferative Agents: Synthesis, In vitro Evaluation and Molecular Modelling. *Lett Drug Des Discov*. 2020;17(12):1502-15. doi: [10.2174/1570180817999200712190831](https://doi.org/10.2174/1570180817999200712190831)
26. Mahanti S, Sunkara S, Bhavani R. Synthesis, biological evaluation and computational studies of fused acridine containing 1,2,4-triazole derivatives as anticancer agents. *Synthetic Communications*. 2019;49(13):1729-40. doi: [10.1080/00397911.2019.1608450](https://doi.org/10.1080/00397911.2019.1608450)
27. Maddali NK, Ivaturi VK, Murthy Yellajyosula LN, Malkhed V, Brahman PK, Pindiprolu SK, et al. New 1,2,4-triazole scaffolds as anticancer agents: Synthesis, biological evaluation and docking studies. *ChemistrySelect*. 2021;6:6788-96. doi: [10.1002/slct.202101387](https://doi.org/10.1002/slct.202101387)
28. Kaur R, Dwivedi AR, Kumar B, Kumar V. Recent Developments on 1,2,4-Triazole Nucleus in Anticancer Compounds: A Review. *Anticancer Agents Med Chem*. 2016;16(4):465-89. doi: [10.2174/1871520615666150819121106](https://doi.org/10.2174/1871520615666150819121106)
29. Lei Y, Zhang D, Liu Y, Tian G, Ge H. Synthesis and X-Ray Structure of New Anticancer Nucleosides Based on 1-((2-Hydroxyethoxy)methyl)-5-(phenylthio)-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Journal of Crystallization Process and Technology*. 2014;4(3):135-9. doi: [10.4236/jcpt.2014.43017](https://doi.org/10.4236/jcpt.2014.43017)
30. Farghaly T, Abdallah MA, Mmahmoud HK. Synthesis of novel 1,2,4-triazoles and triazolo-thiadiazines as anticancer agents. *Turkish Journal of Chemistry*. 2015;39(5):5. doi: [10.3906/kim-1504-13](https://doi.org/10.3906/kim-1504-13)
31. Bekircan O, Kucuk M, Kahveci B, Bektas H. Synthesis and anticancer evaluation of some new 4-amino-3-(p-methoxybenzyl)-4,5-dihydro-1,2,4-triazole-5-one derivatives. *Zeitschrift Fur Naturforschung – Section B Journal of Chemical Sciences*. 2008;63(11):1305-14. doi: [10.1515/znb-2008-1109](https://doi.org/10.1515/znb-2008-1109)