



# In silico дослідження S-алкілпохідних 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу як потенційних біологічно активних сполук

Т. С. Британова 

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

Гетероциклічні сполуки посідають провідне місце у створенні нових біологічно активних речовин. Особливий науковий інтерес привертають пірол та 1,2,4-тріазол. Поєднання цих фрагментів у межах однієї молекули є перспективним підходом до розроблення лікарських агентів.

**Мета роботи** – *in silico* оцінювання токсикологічних, фармакокінетичних і фармакодинамічних характеристик S-алкілпохідних 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу для визначення їхнього потенціалу як біологічно активних субстанцій.

**Матеріали і методи.** Досліджуваний ряд S-алкілпохідних 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу формували, враховуючи синтетичну доступність. Токсичність прогнозували за допомогою TEST, а фізико-хімічні та фармакокінетичні властивості – з використанням SwissADME. Молекулярний докінг виконали для оцінювання взаємодій з активними сайтами ферментів, використовуючи MarvinSketch, HyperChem, AutoDock Tools та AutoDock Vina.

**Результати.** Прогнозування токсичних властивостей за допомогою програми TEST засвідчило, що LD<sub>50</sub> для щурів становить 341,55–528,74 мг/кг із тенденцією до зниження токсичності при подовженні тіоалкільного замісника. Для водних організмів встановлено зворотну залежність: подовження алкільного ланцюга підвищує ліпофільність і токсичність. Молекулярний докінг показав, що сполуки можуть утворювати стабільні комплекси з активними сайтами ЦОГ-2, ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази та АЛК-кінази. Найвищу афінність мали сполука 4 (ЦОГ-2), сполука 7 (СYP51) та сполука 11 (АЛК-кіназа). Взаємодії включали гідрофобні,  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -катионні та електростатичні контакти. Фармакокінетичне моделювання (SwissADME) показало хорошу пероральну біодоступність і абсорбцію більшості похідних (2–10), здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр, відсутність інгібування СYP3A4 і відповідність критеріям лікоподібності. Подовження тіоалкільного фрагмента супроводжувало зростання LogP і зниження водорозчинності, що може обмежувати окремі фармакокінетичні параметри. Найбільш збалансовані властивості виявлено у сполук 3–10.

**Висновки.** S-алкілпохідні 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу є перспективними кандидатами для наступних доклінічних досліджень як потенційні протизапальні, протигрибкові та протипухлинні агенти.

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

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 119-129

## In silico study of S-alkyl derivatives of 4-methyl-5-(pyrrol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol as potential biologically active compounds

T. S. Brytanova

Heterocyclic compounds play a key role in the development of novel biologically active agents, among which pyrrole and 1,2,4-triazole attract particular attention. The combination of these fragments within a single molecule is considered a promising strategy for the design of new drug candidates.

**The aim** of this study was the *in silico* evaluation of toxicological, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of S-alkyl derivatives of 4-methyl-5-(pyrrol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol to assess their potential as bioactive substances.

**Materials and methods.** The studied series of S-alkyl derivatives of 4-methyl-5-(pyrrol-2-yl)-1,2,4-triazole was designed considering synthetic feasibility. Toxicity predictions were performed using TEST, while physicochemical and pharmacokinetic properties were evaluated via SwissADME. Molecular docking was conducted to assess ligand interactions with enzyme active sites, using MarvinSketch, HyperChem, AutoDock Tools and AutoDock Vina.

**Results.** Toxicity prediction using the TEST software indicated that the LD<sub>50</sub> values in rats ranged from 341.55 to 528.74 mg/kg, with a trend toward reduced toxicity upon elongation of the thioalkyl substituent. Conversely, for aquatic organisms, an opposite trend was observed: elongation of the alkyl chain increased lipophilicity and toxicity. Molecular docking demonstrated the ability of the compounds to form stable

### ARTICLE INFO



UDC 547.792:74/.75:367:615.31.015]-047.37  
DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.338123](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.338123)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):119-129

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

Received: 17.02.2026 // Revised: 21.04.2026 // Accepted: 24.04.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

complexes with the active sites of COX-2, lanosterol 14 $\alpha$ -demethylase (CYP51) and ALK kinase. The highest affinities were observed for compound 4 (COX-2), compound 7 (CYP51) and compound 11 (ALK kinase). Interactions included hydrophobic contacts,  $\pi$ - $\pi$  stacking,  $\pi$ -cation and electrostatic interactions. Pharmacokinetic modeling using SwissADME indicated good oral bioavailability and absorption for most derivatives (2–10), blood-brain barrier permeability, no CYP3A4 inhibition and compliance with drug-likeness criteria. Elongation of the thioalkyl fragment was associated with increased LogP and decreased aqueous solubility, which may limit certain pharmacokinetic parameters. The most balanced profiles were observed for compounds 3–10.

**Conclusions.** The results indicate that *S*-alkyl derivatives of 4-methyl-5-(pyrrol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol are promising candidates for further preclinical studies as potential anti-inflammatory, antifungal and anticancer agents.

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

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):119-129**

Створення біологічно активних сполук із залученням гетероциклічних систем залишається одним із найперспективніших напрямів наукового розвитку сучасної медичної хімії. Використання нітрогеновмісних гетероциклів дає унікальні можливості щодо моделювання необхідних властивостей цільових продуктів хімічного перетворення, зокрема фізіологічних.

Безпосередня наявність атомів Нітрогену в структурі циклу допомагає ефективно впливати на активні центри цільових ензимів, наприклад, завдяки формуванню міжмолекулярних хімічних зв'язків. У значному арсеналі сполук цього типу окремої уваги потребують піроловий та 1,2,4-тріазоловий цикли, залучення яких до конструювання перспективних біоактивних систем свого часу призвело до одержання насправді дієвих лікарських засобів.

Так, піроловмісний амтолметин гуацил характеризується зіставним із сучасними нестероїдними протизапальними лікарськими засобами сприятливим профілем безпеки, зокрема гастропротекторними властивостями [1]. Разом з тим, ядро 1,2,4-тріазолу широко застосовують під час створення сучасних лікарських засобів. Воно є структурним фрагментом протигрибкових препаратів (флуконазол, вориконазол) [2,3], а також низки сполук із доведеною протизапальною, протипухлинною та іншими видами біологічної активності [4,5]. У низці праць доведено відносно невисоку токсичність окремих похідних цієї групи [6].

Отже, зважаючи на актуальність пошуку нових високоефективних засобів для фармакотерапії різних патологічних станів, зокрема пов'язаних із мікозами [2,3], запальними процесами [7] та онкологічними захворюваннями [3,6], спрямування досліджень на виявлення перспективних біологічно активних сполук із відповідним фармакологічним потенціалом є науково доцільним і має важливе практичне значення [8].

## Мета роботи

*In silico* оцінювання токсикологічних, фармакокінетичних і фармакодинамічних характеристик *S*-алкілпохідних 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу для визначення їхнього потенціалу як біологічно активних субстанцій.

## Матеріали і методи дослідження

Відбір структур для *in silico* досліджень здійснили на основі систематичного аналізу наукових публікацій та

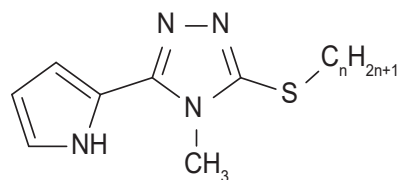
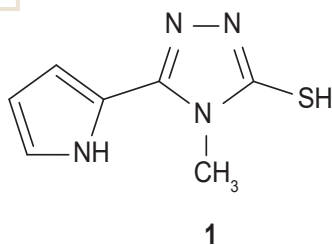
беручи до уваги фундаментальні положення органічної хімії [9]. Такий підхід забезпечив науково обгрунтоване включення до складу молекул відомих фармакофорних фрагментів у ковалентно зв'язаній формі, що створює передумови для підвищення їхнього фармакологічного значення та обгрунтовує доцільність подальших досліджень (рис. 1).

Для оцінювання безпечності та потенційної токсичності досліджених сполук виконали *in silico* аналіз із використанням програмного забезпечення TEST (Toxicity Estimation Software Tool). Це програмне забезпечення здійснює прогнозування потенційної мутагенності хімічних речовин на основі методів кількісного аналізу зв'язку між структурою та біологічною активністю (QSAR), а також аналізу структурних аналогів. Мутагенність визначають за наявністю у структурі молекули фрагментів, що можуть індукувати генетичні мутації. Оцінювання гострої токсичності здійснено шляхом обчислення показника LD<sub>50</sub> – дози, що спричиняє загибель 50 % лабораторних щурів при пероральному введенні (у мг/кг і моль/кг). Наступний етап дослідження – оцінювання екоотоксичності сполук, зокрема їхнього впливу на водні організми: *Daphnia magna* та *Pimephales promelas*. Для цього використано показник LC<sub>50</sub> (летальна концентрація, що спричиняє загибель 50 % тестових організмів за певний період часу), який дає змогу кількісно схарактеризувати токсичність речовин у водному середовищі.

Метод молекулярного докінгу застосовано для прогнозування та дослідження взаємодій із відповідними модельними ферментами, включаючи ідентифікацію потенційних сайтів зв'язування, оцінювання енергії взаємодії та просторової орієнтації молекул в активному центрі. Структури лігандів моделювали з використанням програмного забезпечення MarvinSketch 6.3.0 [10] та HyperChem 8, а також AutoDock Tools 1.5.6 [11]. Підготовку ферментів до докінгового аналізу здійснено за допомогою Discovery Studio 4.0 [12] та AutoDock Tools 1.5.6 [11].

Молекулярний докінг здійснено у програмі Vina, що забезпечує моделювання та оцінювання взаємодій між лігандом і тривимірною структурою білка-мішені. Для аналізу фізико-хімічних характеристик і фармакокінетичних параметрів досліджених сполук використано онлайн-платформу SwissADME.

1



**2-11:** n = 1 (**2**), n = 2 (**3**), n = 3 (**4**), n = 4 (**5**), n = 5 (**6**),  
n = 6 (**7**), n = 7 (**8**), n = 8 (**9**), n = 9 (**10**), n = 10 (**11**)

Рис. 1. Структура сполук, обраних для *in silico* досліджень.

## Результати

Прогнозовані значення  $LD_{50}$  становлять від 341,55 мг/кг для 4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**1**) до 528,74 мг/кг для 3-(децилтіо)-4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**11**). Значення  $-\log_{10}$  (моль/кг) коливається у діапазоні 2,68–2,82, що свідчить про відносну стабільність молярної токсичності (табл. 1).

Усі досліджені сполуки (**1–11**) мають позитивний прогноз мутагенності (табл. 1). Імовірність мутагенного впливу прогнозована від 0,64 для 3-(етилтіо)-4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**3**) до 0,94 для 3-(октилтіо)-4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**9**).

Показники токсичності для *Daphnia magna* ( $LC_{50}$ , 48 год) зменшувалися зі збільшенням довжини тіоалкільного замісника: від 4,10 мг/л (**2**) до 0,67 мг/л (**9**). Водночас зафіксовано збільшення значень  $-\log_{10}$  від 4,68 моль/кг до 5,64 моль/кг, що свідчить про посилення молярної токсичності більш ліпофільних сполук (табл. 1).

Оцінювання ефективності зв'язування з активним сайтом циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) дало змогу одержати значення мінімальної енергії комплексоутворення ( $E_{\min}$ ) з інтервалом показників для досліджених сполук від -7,2 ккал/моль до -4,8 ккал/моль (табл. 2).

Найвищу афінність до активного центру ЦОГ-2 мав 4-метил-3-(пропілтіо)-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол (**4**) з  $E_{\min} = -7,2$  ккал/моль. Найнижчу спорідненість зафіксовано у 3-(децилтіо)-4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**11**) з  $E_{\min} = -4,8$  ккал/моль. Референтний інгібітор целекоксиб мав значно нижчу енергію зв'язування (-13,4 ккал/моль), що очікувано вказує на його високу ефективність як ліганду (табл. 2).

Аналіз типів взаємодій показав різноманіття гідрофобних і негідрофобних контактів у всіх досліджених лігандів. Серед гідрофобних домінують  $\pi$ -алкільні,  $\pi$ - $\sigma$ , алкільні та C-H взаємодії за участю залишків ALAA: 528, LEU A: 353, LEU A: 385, VAL A: 350, VAL A: 524 і MET A: 523. Утворення  $\pi$ -S взаємодій із залишком MET A: 523 додатково сприяє стабільності комплексів (табл. 3).

У більшості похідних (**3–11**) виявлено амід- $\pi$  стекинг із GLY A: 527, що свідчить про сприятливу орієнтацію лігандів у межах активного сайту. Щодо сполук **7–10** також зафіксовано  $\pi$ - $\pi$  стекинг і  $\pi$ -катионні взаємодії з PHE A: 519 і LYS A: 359 і 533. Комплекси сполук **4** і **9** додатково стабілізуються ван дер Ваальсовими силами та  $\pi$ -донорними водневими зв'язками, що свідчить про багатокомпонентну природу їх зв'язування (табл. 3).

Таблиця 1. Кількісні показники *in silico* оцінювання токсичності

Сполука	$LD_{50}$ (щури, <i>per os</i> ), мг/кг / $-\log_{10}$ моль/кг	Мутагенність	$LC_{50}$ ( <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
1	341,55 / 2,72	0,90 / +	4,55 / 5,08	3,22 / 86,26
2	404,34 / 2,68	0,91 / +	4,68 / 4,10	3,59 / 49,55
3	416,91 / 2,70	0,64 / +	4,99 / 2,15	3,82 / 31,80
4	350,36 / 2,80	0,93 / +	4,97 / 2,37	4,19 / 14,35
5	358,49 / 2,82	0,86 / +	4,90 / 2,98	4,37 / 10,11
6	403,74 / 2,79	0,85 / +	4,96 / 2,73	4,68 / 5,21
7	437,05 / 2,78	0,85 / +	5,02 / 2,52	2,65 / 5,00
8	464,49 / 2,78	0,84 / +	5,43 / 1,04	1,34 / 5,32
9	489,27 / 2,76	0,94 / +	5,64 / 0,67	5,64 / 0,67
10	517,35 / 2,75	0,93 / +	5,15 / 2,18	5,97 / 0,33
11	528,74 / 2,76	0,92 / +	5,12 / 2,41	6,29 / 0,16

Таблиця 2. Показники  $E_{\min}$  з активним центром ЦОГ-2, ккал/моль

№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$
1	-6,1	3	-6,7	6	-6,6	9	-6,1
2	-6,2	4	-7,2	7	-6,9	10	-5,0
Целекоксиб	-13,4	5	-6,4	8	-6,8	11	-4,8

Таблиця 3. Природа взаємодій досліджених сполук з активним центром ЦОГ-2

№	Тип взаємодії
1	ALA A: 528 (π-алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), VAL A: 350 (π-алкіл), VAL A: 524 (π-алкіл), MET A: 523 (π-S)
2	ALA A: 528 (π-алкіл, C-H взаємодія), LEU A: 385 (π-алкіл), TYR A: 356 (алкіл, S-X взаємодія, X = O, H, π-ароматична система), VAL A: 350 (π-алкіл), VAL A: 524 (алкіл, π-алкіл)
3	ALA A: 528 (π-σ), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 360 (алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл), MET A: 523 (π-S), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-алкіл), VAL A: 524 (π-алкіл)
4	ALA A: 528 (алкіл, π-σ), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 353 (ван дер Ваальсові сили), LEU A: 360 (алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл), MET A: 114 (алкіл), MET A: 523 (π-S), PHE A: 519 (амід-π стекінг), PHE A: 382 (ван дер Ваальсові сили), SER A: 354 (ван дер Ваальсові сили), SER A: 531 (ван дер Ваальсові сили), TYR A: 356 (ван дер Ваальсові сили), TYR A: 386 (ван дер Ваальсові сили), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-алкіл), VAL A: 524 (π-алкіл)
5	ALA A: 528 (алкіл, π-σ), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 93 (алкіл), LEU A: 353 (π-σ), LEU A: 532 (алкіл, π-алкіл), SER A: 531 (ван дер Ваальсові сили), TYR A: 386 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-σ)
6	ALA A: 528 (алкіл, π-алкіл), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 353 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл, π-алкіл), MET A: 523 (π-S, ван дер Ваальсові сили), TYR A: 356 (алкіл), VAL A: 89 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-алкіл)
7	ALA A: 528 (алкіл, π-σ), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 93 (алкіл), LEU A: 353 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл, π-алкіл), MET A: 523 (π-S, C-H взаємодія), PHE A: 519 (π-π-стекінг), TYR A: 356 (алкіл), VAL A: 89 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл)
8	ALA A: 528 (алкіл, π-алкіл), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 93 (алкіл), LEU A: 353 (π-алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл), MET A: 523 (π-S, C-H взаємодія), PHE A: 519 (π-π стекінг), TYR A: 356 (алкіл), VAL A: 89 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-алкіл)
9	ASP A: 348 (π-донорний H-зв'язок), ASN A: 582 (міжмолекулярний H-зв'язок, C-H взаємодія), GLN A: 351 (π-донорний H-зв'язок), HIS A: 95 (π-алкіл), HIS A: 352 (π-π T-стекінг, π-донорний H-зв'язок), LYS A: 97 (π-катионна взаємодія), LYS A: 359 (π-катионна взаємодія)
10	ALA A: 528 (алкіл, π-σ), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 93 (алкіл), LEU A: 353 (π-алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл), LYS A: 533 (π-катионна взаємодія), MET A: 523 (π-S, C-H взаємодія), PHE A: 519 (π-π стекінг), TYR A: 356 (алкіл), VAL A: 89 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-σ)
11	ALA A: 528 (алкіл), GLY A: 527 (амід-π стекінг), LEU A: 353 (π-алкіл), LEU A: 385 (π-алкіл), LEU A: 532 (алкіл), MET A: 523 (π-S, C-H взаємодія), PHE A: 519 (π-π стекінг), TYR A: 356 (алкіл), VAL A: 89 (алкіл), VAL A: 117 (алкіл), VAL A: 350 (алкіл, π-алкіл)

Наступний етап дослідження – молекулярний докінг змодельованих сполук (1–11) з активним сайтом ланостерол 14α-деметилази. Як референтну сполуку використано флуконазол.

Значення  $E_{\min}$  для досліджених сполук становили від -5,7 ккал/моль до -7,6 ккал/моль, а флуконазол очікувано мав менший показник – -10,9 ккал/моль (табл. 4).

З-поміж досліджених похідних найвища афінність зафіксована у 3-(гексилтіо)-4-метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (7), який мав  $E_{\min}$  на рівні -7,6 ккал/моль. Ця речовина формує π-катионну взаємодію з LYS A: 405, водневі зв'язки з SER A: 261 та THR A: 260, а також численні гідрофобні контакти (табл. 5).

Сполуки 5, 6, 8–10 також утворюють розгалужену систему стабілізуювальних взаємодій, включно з π-катионними та π-π стекінгами за участю PHE A: 387 і PHE A: 399, що свідчить про участь ароматичних фрагментів у зв'язуванні. Сполука 4 характеризується менш поширеним типом контакту: амід-π стекінг із залишками PHE A: 519 (табл. 5).

Комплексоутворення за участю досліджених лігандів стабілізується переважно гідрофобними взаємодіями (π-алкільні, π-σ, алкільні, C-H) із залученням залишків ALA A: 400, CYS A: 394, ILE A: 404, LEU A: 315 і 321, PRO A: 320, THR A: 260 і 264 і TYR A: 356. Крім того, виявлено електростатичні взаємодії (π-катионні) з ARG A: 393, LYS A: 312 і 405 і π-S взаємодії із сульфуровмісними залишками (табл. 5). Найменшу спорідненість зафіксовано для сполуки 11 ( $E_{\min}$  = -6,4 ккал/моль), що може бути пов'язано з меншою кількістю стабілізуювальних взаємодій або неефективним просторовим розташуванням у межах активного центру (табл. 5).

Враховуючи еталонне значення  $E_{\min}$  для референтного інгібітора тирозинкінази рецепторів анапластичної лімфоми кінази (АЛК) – кризотинібу ( $E_{\min}$  = -9,4 ккал/моль), результати молекулярного докінгу свідчать про помірний рівень спорідненості більшості досліджених сполук до активного сайту цього ензиму.

Значення  $E_{\min}$  досліджених молекул перевищували показник кризотинібу більше ніж на 2 ккал/моль,

Таблиця 4. Показники  $E_{\min}$  з активним центром ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази, ккал/моль

№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$	№	$E_{\min}$
1	-5,7	3	-6,1	6	-6,8	9	-6,9
2	-6,2	4	-6,7	7	-7,6	10	-7,1
Флуконазол	-10,9	5	-7,3	8	-7,1	11	-6,4

Таблиця 5. Природа прогнозованих взаємодій досліджених сполук з активним центром ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази

№	Тип взаємодії
1	ALA A: 104 ( $\pi$ -алкіл), ALA A: 256 ( $\pi$ -алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), GLY A: 396 ( $\pi$ - $\sigma$ ), CYS A: 394 (H-зв'язок), HIS A: 101 (C-H зв'язок), LEU A: 100 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 105 ( $\pi$ -алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), LEU A: 152 ( $\pi$ -алкіл)
2	ALA A: 400 ( $\pi$ -алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -S), CYS A: 394 (алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 311 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -катион), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 260 ( $\pi$ -донор H-зв'язок)
3	ALA A: 104 ( $\pi$ -алкіл), ALA A: 256 ( $\pi$ -алкіл), ALA A: 400 (алкіл), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 ( $\pi$ -алкіл), GLY A: 396 ( $\pi$ - $\sigma$ , C-H зв'язок), LEU A: 105 ( $\pi$ - $\sigma$ ), LEU A: 152 ( $\pi$ -алкіл), PHE A: 387 ( $\pi$ -катион), PHE A: 399 ( $\pi$ - $\pi$ T-стекинг)
4	ALA A: 400 ( $\pi$ -алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), LEU A: 353 (ван дер Ваальсові сили), CYS A: 394 (алкіл, $\pi$ -алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -S, $\pi$ - $\pi$ T-стекинг), PHE A: 519 (амід- $\pi$ стекинг), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 264 (H-зв'язок)
5	ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 ( $\pi$ -алкіл, C-H зв'язок), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LEU A: 324 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), PRO A: 386 ( $\pi$ -донор H-зв'язок), THR A: 260 ( $\pi$ - $\sigma$ , H-зв'язок)
6	ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 (алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LEU A: 324 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -S, $\pi$ - $\pi$ T-стекинг), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 264 ( $\pi$ -донор H-зв'язок)
7	ALA A: 256 ( $\pi$ -алкіл), ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), CYS A: 394 (алкіл), LEU A: 105 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 152 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LEU A: 324 (алкіл), LYS A: 405 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -алкіл), PRO A: 349 (алкіл), SER A: 261 (H-зв'язок), THR A: 260 (H-зв'язок)
8	ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 (алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 311 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LEU A: 324 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -S, $\pi$ - $\pi$ T-стекинг), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 264 ( $\pi$ -донор H-зв'язок), TYR A: 356 (алкіл)
9	ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 (алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LEU A: 324 (алкіл), LYS A: 312 ( $\pi$ -катион), PHE A: 387 ( $\pi$ -S, $\pi$ - $\pi$ T-стекинг), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 264 ( $\pi$ -донор H-зв'язок), TYR A: 356 (алкіл)
10	ALA A: 400 (алкіл, $\pi$ - $\sigma$ ), ARG A: 393 ( $\pi$ -катион), CYS A: 394 (алкіл, $\pi$ -алкіл), HIS A: 259 (алкіл), ILE A: 404 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 315 ( $\pi$ -алкіл), LEU A: 321 (алкіл), LYS A: 315 ( $\pi$ -катионна взаємодія), MET A: 79 (алкіл), PHE A: 78 ( $\pi$ -алкіл), PHE A: 255 ( $\pi$ -алкіл), PHE A: 387 ( $\pi$ -S, $\pi$ - $\pi$ T-стекинг), PRO A: 320 ( $\pi$ -алкіл), THR A: 264 ( $\pi$ -донор H-зв'язок), TYR A: 76 (алкіл)
11	ARG A: 96 (алкіл), ARG A: 194 ( $\pi$ -катион), HIS A: 259 (C-H зв'язок), HIS A: 392 (алкіл), LEU A: 321 ( $\pi$ -алкіл), VAL A: 395 (алкіл)

що підтверджує менш вірогідну афінність до мішені (табл. 6).

Найвищу спорідненість до активного сайту АЛК мали сполуки **7**, **9** та **11** (табл. 7). Так, сполука **11** утворює  $\pi$ -катионні взаємодії з залишками ARG A: 1120 та ARG A: 1264,  $\pi$ -аніонні контакти з GLU A: 1132, а також численні гідрофобні взаємодії (алкільні,  $\pi$ -алкільні, C-H), що забезпечує стабільне зв'язування з білком ( $E_{\min} = -7,3$  ккал/моль).

Сполука **9** переважно формує гідрофобні взаємодії із залишками LEU, MET і LYS. При цьому прогнозується, що залишок MET A: 1199 активно братиме участь у формуванні C-H зв'язку (табл. 7). Значення  $E_{\min}$  для цієї сполуки предиктивно становить -6,9 ккал/моль. Сполука **7** має взаємодії  $\pi$ -алкільного та алкільного типу з LEU та LYS, проте не утворює водневих або електростатичних зв'язків, характерних для кризотинібу, значення  $E_{\min}$  – на рівні -6,8 ккал/моль.

Для порівняння, кризотиніб формує стабільний комплекс завдяки поєднанню електростатичних, водневих

і гідрофобних взаємодій, що зумовлює його високу афінність до АЛК.

Одержані фармакокінетичні параметри дали підстави зробити висновок, що з подовженням тіоалкільного замісника у структурах відбувається посилення ліпофільності (LogP), що супроводжується збільшенням кількості обертових зв'язків (КОЗ). Значення топологічної площі полярної поверхні (ТППП) для більшості сполук становить менше ніж  $90 \text{ \AA}^2$  (крім сполуки **11**), що відповідає прийнятому пороговому значенню для передбачуваної вираженої пероральної біодоступності.

Кількість важких атомів (КВА) послідовно збільшується від 12 у сполуки **2** до 22 у сполуки **11**, що повністю корелює з подовженням алкільного ланцюга (табл. 8). При цьому кількість ароматичних важких атомів (КАВА) залишається сталою (10) у всіх сполуках, оскільки ароматична система не зазнає структурних змін. Аналогічну сталість визначено для параметрів, що характеризують гідрогенозв'язувальний потенціал: кількість акцепторів водневого зв'язку (КАВЗ) у всіх сполуках становить 2,

Таблиця 6. Показники  $E_{min}$  з активним центром кінази анапластичної лімфоми, ккал/моль

№	$E_{min}$	№	$E_{min}$	№	$E_{min}$	№	$E_{min}$
1	-5,2	3	-6,0	6	-5,3	9	-7,2
2	-4,7	4	-5,4	7	-6,8	10	-5,3
Кризотиніб	-9,4	5	-6,2	8	-5,6	11	-7,3

Таблиця 7. Природа взаємодій досліджених сполук з активним центром із кінази анапластичної лімфоми

№	Тип взаємодії
1	ALAA: 1148 (π-алкіл), ARG A: 1120 (π-катион), LEU A: 1122 (π-σ), LEU A: 1148 (π-алкіл), LEU A: 1256 (π-алкіл), MET A: 1199 (H-зв'язок), VAL A: 1130 (π-алкіл)
2	ALAA: 1148 (π-алкіл), ILE A: 1171 (алкіл), LEU A: 1122 (π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл, π-алкіл), LEU A: 1256 (π-алкіл), LYS A: 1150 (алкіл), LYS A: 1267 (π-катион), VAL A: 1130 (π-σ)
3	ALAA: 1148 (π-алкіл), ALAA: 1200 (C-H-зв'язок, алкіл), ARG A: 1120 (π-катион), LEU A: 1122 (π-алкіл), LEU A: 1148 (π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1256 (π-алкіл), LYS A: 1150 (алкіл), MET A: 1199 (H-зв'язок), VAL A: 1130 (алкіл, π-алкіл)
4	ALAA: 1148 (π-алкіл), LEU A: 1122 (π-σ, π-алкіл), LEU A: 1198 (π-алкіл), LEU A: 1256 (π-σ, алкіл), MET A: 1199 (π-алкіл, H-зв'язок), VAL A: 1130 (π-алкіл)
5	ALAA: 1148 (π-алкіл), ALAA: 1200 (C-H-зв'язок), LEU A: 1122 (π-σ, π-алкіл), LEU A: 1198 (π-алкіл), LEU A: 1256 (π-σ, алкіл), MET A: 1199 (π-алкіл, H-зв'язок), VAL A: 1130 (алкіл, π-алкіл)
6	ALAA: 1148 (π-алкіл), ARG A: 1253 (π-катион), GLY A: 1269 (C-H-зв'язок), LEU A: 1148 (алкіл), LEU A: 1196 (π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1256 (π-σ), LYS A: 1150 (π-алкіл), VAL A: 1130 (π-алкіл)
7	ILE A: 1171 (алкіл), LEU A: 1122 (π-σ, π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1198 (π-алкіл), LEU A: 1256 (алкіл, π-алкіл), LYS A: 1150 (π-алкіл)
8	ALAA: 1148 (π-алкіл), ALAA: 1200 (алкіл), LEU A: 1122 (алкіл, π-алкіл), LEU A: 1196 (π-алкіл), LEU A: 1198 (алкіл), LEU A: 1256 (алкіл, π-алкіл, π-σ), LYS A: 1150 (π-алкіл), LYS A: 1267 (π-катион) MET A: 1199 (π-алкіл, H-зв'язок), VAL A: 1130 (π-алкіл)
9	ALAA: 1200 (алкіл), ILE A: 1171 (алкіл), LEU A: 1122 (π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1198 (алкіл), LEU A: 1256 (алкіл, π-алкіл), LYS A: 1150 (алкіл), MET A: 1199 (C-H взаємодія)
10	ALAA: 1148 (алкіл), ARG A: 1253 (π-катион), ASP A: 1203 (π-аніон), LEU A: 1122 (алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1198 (π-алкіл), LEU A: 1256 (алкіл, π-алкіл), LYS A: 1150 (алкіл), MET A: 1199 (алкіл), VAL A: 1130 (алкіл)
11	ALAA: 1200 (π-алкіл), ARG A: 1120 (π-катион), ARG A: 1264 (π-катион), GLU A: 1132 (π-аніон), ILE A: 1171 (алкіл), LEU A: 1122 (алкіл, π-алкіл), LEU A: 1196 (алкіл), LEU A: 1256 (алкіл), LYS A: 1150 (алкіл), MET A: 1199 (C-H взаємодія), VAL A: 1130 (алкіл)

а кількість донорів (КДВЗ) – 1, що відповідає наявності атомів Нітрогену 1,2,4-тріазольного циклу та NH-групи піролу. Водночас молекулярна рефракція (MP) має чітку тенденцію до зростання зі збільшенням довжини тіоалкільного замісника – від 48,32 у сполуки **1** до 96,05 у сполуки **11** (табл. 8). Пояснюємо це внеском додаткових атомів Карбону та Гідрогену у збільшення поляризованості молекули та її об'єму.

Аналіз вмісту  $sp^3$ -гібризованих атомів Карбону ( $C_{sp^3}$ ) показав: сполукам, що характеризуються збільшенням цього показника, властивий вищий ступінь тривимірності (табл. 8). Сполуки **2–5** мають оптимальний баланс між такими показниками, як молекулярна маса, ТППП, КОЗ, частка  $C_{sp^3}$  і синтетична доступність.

Сполука **1** має найменшу молекулярну масу (M) і найбільше значення ТППП серед усіх досліджених зразків. Сполуки **9–11**, що містять подовжені алкільні ланцюги, вирізняються підвищеною ліпофільністю та потенційно зниженою водорозчинністю.

4-Метил-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол (**1**) та його S-метилпохідне (**2**) мали найвищі предиктивні значення водорозчинності, що перевищують  $1 \times 10^{-2}$  моль/л (табл. 9). Згідно з класифікацією моделей ESOL та Alі,

обидві ці сполуки попередньо можуть бути класифіковані як добре розчинні (ДР).

Подовження тіоалкільного ланцюга (**3–11**) супроводжується поступовим зниженням показників водорозчинності за всіма трьома моделями. Починаючи з 4-метил-3-(пентилтіо)-5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазолу (**6**), більшість структур визначено як помірно розчинні (ПР), а сполука **11** – як малорозчинна (МР).

Модель ESOL показала найменш консервативні оцінки, відносячи до класу ПР лише сполуки **9–11**, решту класифіковано як розчинні (P). У моделі Alі зниження розчинності відбувалося швидше: вже від сполуки **6** досліджені структури визначено як ПР. Найсуворішу оцінку мала модель SILICOS-IT, що для більшості похідних передбачила статус ПР, а для сполуки **11** – МР (табл. 9).

Наступним етапом досліджень предиктивно визначено, що ліпофільність збільшується в напрямі від сполуки **1** до сполуки **11**. Консенсусні значення  $\log P_{ov}$  утворюють інтервал показників у межах від 0,88 (**1**) до 4,44 (**11**), що свідчить про суттєвий діапазон гідрофобності в ряду досліджених молекул (табл. 10).

Найменше значення ліпофільності ( $\log P$ ) зафіксовано для сполуки **1**, що є найбільш гідрофільною, а сполука **11**

Таблиця 8. Фізико-хімічні властивості досліджених сполук

№	M, г/моль	КВА	КАВА	Фракція Csp <sup>3</sup>	КОЗ	КАВЗ	КДВЗ	MP	ТПП, Å <sup>2</sup>
1	180,23	12	10	0,14	1	2	1	48,32	85,30
2	194,26	13	10	0,25	2	2	1	52,79	71,80
3	208,28	14	10	0,33	3	2	1	57,60	71,80
4	222,31	15	10	0,40	4	2	1	62,41	71,80
5	236,34	16	10	0,45	5	2	1	67,21	71,80
6	250,36	17	10	0,50	6	2	1	72,02	71,80
7	264,39	18	10	0,54	7	2	1	76,83	71,80
8	278,42	19	10	0,57	8	2	1	81,63	71,80
9	292,44	20	10	0,60	9	2	1	86,44	71,80
10	306,47	21	10	0,62	10	2	1	91,25	71,80
11	320,50	22	10	0,60	11	2	1	96,05	71,80

Таблиця 9. ADME-аналіз: розчинність у воді досліджених сполук

№	Log S: ESOL	Розчинність, - мг/мл; - моль/л	Клас	Log S: Ali	Розчинність, - мг/мл; - моль/л	Клас	Log S: SILICOS-IT	Розчинність, - мг/мл; - моль/л	Клас
1	-1,76	-3,13; 1,74 × 10 <sup>-2</sup>	ДР	-1,76	-3,15; 1,75 × 10 <sup>-2</sup>	ДР	-2,26	9,86 × 10 <sup>-1</sup> ; 5,47 × 10 <sup>-3</sup>	Р
2	-1,96	-2,13; 1,10 × 10 <sup>-2</sup>	ДР	-1,85	-2,76; 1,42 × 10 <sup>-2</sup>	ДР	-2,65	4,31 × 10 <sup>-1</sup> ; 2,22 × 10 <sup>-3</sup>	Р
3	-2,17	-1,42; 6,80 × 10 <sup>-3</sup>	Р	-2,22	-1,25; 6,01 × 10 <sup>-3</sup>	Р	-3,06	1,81 × 10 <sup>-1</sup> ; 8,69 × 10 <sup>-4</sup>	Р
4	-2,49	7,24 × 10 <sup>-1</sup> ; 3,26 × 10 <sup>-3</sup>	Р	-2,77	3,76 × 10 <sup>-1</sup> ; 1,69 × 10 <sup>-3</sup>	Р	-3,47	7,59 × 10 <sup>-2</sup> ; 3,41 × 10 <sup>-4</sup>	Р
5	-2,70	4,67 × 10 <sup>-1</sup> ; 1,98 × 10 <sup>-3</sup>	Р	-3,14	1,69 × 10 <sup>-1</sup> ; 7,17 × 10 <sup>-4</sup>	Р	-3,87	3,18 × 10 <sup>-2</sup> ; 1,35 × 10 <sup>-4</sup>	Р
6	-3,04	2,29 × 10 <sup>-1</sup> ; 9,16 × 10 <sup>-4</sup>	Р	-3,71	4,94 × 10 <sup>-2</sup> ; 1,97 × 10 <sup>-4</sup>	Р	-4,27	1,33 × 10 <sup>-2</sup> ; 5,32 × 10 <sup>-5</sup>	ПР
7	-3,38	1,11 × 10 <sup>-1</sup> ; 4,22 × 10 <sup>-4</sup>	Р	-4,27	1,43 × 10 <sup>-2</sup> ; 5,43 × 10 <sup>-5</sup>	ПР	-4,68	5,57 × 10 <sup>-3</sup> ; 2,11 × 10 <sup>-5</sup>	ПР
8	-3,71	5,37 × 10 <sup>-2</sup> ; 1,93 × 10 <sup>-4</sup>	Р	-4,83	4,16 × 10 <sup>-3</sup> ; 1,49 × 10 <sup>-5</sup>	ПР	-5,08	2,33 × 10 <sup>-3</sup> ; 8,38 × 10 <sup>-6</sup>	ПР
9	-4,06	2,57 × 10 <sup>-2</sup> ; 8,79 × 10 <sup>-5</sup>	ПР	-5,39	1,20 × 10 <sup>-3</sup> ; 4,11 × 10 <sup>-6</sup>	ПР	-5,48	9,77 × 10 <sup>-4</sup> ; 3,34 × 10 <sup>-6</sup>	ПР
10	-4,41	1,20 × 10 <sup>-2</sup> ; 3,93 × 10 <sup>-5</sup>	ПР	-5,96	3,38 × 10 <sup>-4</sup> ; 1,10 × 10 <sup>-6</sup>	ПР	-5,87	4,10 × 10 <sup>-4</sup> ; 1,34 × 10 <sup>-6</sup>	ПР
11	-4,75	5,68 × 10 <sup>-3</sup> ; 1,77 × 10 <sup>-5</sup>	ПР	-6,52	9,74 × 10 <sup>-5</sup> ; 3,04 × 10 <sup>-7</sup>	MP	-6,27	1,71 × 10 <sup>-4</sup> ; 5,35 × 10 <sup>-7</sup>	MP

характеризується найвищим рівнем гідрофобності серед усіх досліджених структур. Сполуки **8–11** мають консенсусні значення Log P<sub>ов</sub>, що перевищують 3,0, а сполуки **3–7** мають значення в межах 1,5–3,0, що визначено як оптимальні для багатьох перорально активних лікарських засобів (табл. 10).

Усі досліджені сполуки мають високу вірогідність шлунково-кишкової (ШК) адсорбції, що є сприятливою властивістю для забезпечення ефективного перорального засвоєння (табл. 11). Аналіз здатності до проникнення через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ)

показав, що лише сполуки **1** та **11** не мають такої властивості, а сполуки **2–10** мають потенціал для досягнення терапевтичних концентрацій у центральній нервовій системі (табл. 11). Жодна з досліджених молекул не мала перспективи щодо субстратної активності до білка Р-гр. Це свідчить про низьку ймовірність ефлюксового транспорту та потенційно підвищену клітинну акумуляцію (табл. 11).

*In silico* дослідження, яке пов'язане з визначенням ймовірності інгібування ферментів системи CYP450, виявило структурно залежну динаміку. Зокрема, активність щодо

Таблиця 10. ADME-аналіз: ліпофільність досліджених сполук

№	Log Po/в (iLogP)	Log Po/в (XLogP3)	Log Po/в (WLogP)	Log Po/в (MLogP)	Log Po/в (SILICOS-IT)	Консенсус Log Po/в
1	1,09	0,40	1,10	0,47	1,34	0,88
2	1,68	0,76	1,53	0,80	1,57	1,27
3	1,75	1,12	1,92	1,12	1,88	1,56
4	2,12	1,65	2,31	1,42	2,21	1,94
5	2,37	2,01	2,70	1,72	2,56	2,27
6	2,50	2,55	3,09	2,00	2,92	2,61
7	2,79	3,09	3,48	2,27	3,29	2,98
8	2,87	3,63	3,87	2,53	3,67	3,31
9	3,37	4,17	4,26	2,79	4,05	3,73
10	3,47	4,72	4,65	3,04	4,44	4,06
11	3,76	5,26	5,04	3,28	4,84	4,44

Таблиця 11. Фармакокінетика досліджених речовин

№	ШК адсорбція	Подолання ГЕБ	P-гр субстрат	CYP1A2 інгібітор	CYP2C19 інгібітор	CYP2C9 інгібітор	CYP2D6 інгібітор	CYP3A4 інгібітор	Log Kp, см/с
1	Висока	–	–	–	–	–	–	–	-7,12
2	Висока	+	–	+	–	–	–	–	-6,95
3	Висока	+	–	+	–	–	–	–	-6,78
4	Висока	+	–	+	+	–	–	–	-6,48
5	Висока	+	–	+	+	–	–	–	-6,31
6	Висока	+	–	+	+	–	–	–	-6,02
7	Висока	+	–	+	+	–	–	–	-5,72
8	Висока	+	–	+	+	+	+	–	-5,42
9	Висока	+	–	+	+	+	–	+	-5,12
10	Висока	+	–	+	+	+	–	+	-4,82
11	Висока	–	–	+	+	+	–	+	-4,52

ізоферменту CYP1A2 виявляється, починаючи зі сполуки **2**, і зростає зі збільшенням гідрофобності молекул, досягаючи максимуму для сполуки **11**. Ізофермент CYP2C19 інгібується сполуками **4–11**, що свідчить про наявність певного структурного порогу, необхідного для взаємодії (табл. 11). Інгібування CYP2C9 зафіксовано лише для найбільш ліпофільних сполук (**8–11**), а активність щодо CYP2D6 обмежена трьома останніми структурами в ряду (**9–11**). Водночас жодна з досліджених сполук не мала потенціалу щодо інгібувального впливу на CYP3A4 – ключового ферменту метаболізму багатьох лікарських засобів, що можна визначити як позитивну характеристику, зважаючи на мінімізацію ризику міжлікарських взаємодій (табл. 11).

Значення Log Kp, що корелюють зі шкірною проникністю, показали поступове зростання відповідно до подовження тіоалкільних ланцюгів у структурі молекул. Це свідчить про підвищення гідрофобності й потенціалу для трансдермального проникнення (табл. 11).

Аналіз лікоподібності показав повну відповідність сполук **1–10** вимогам правил правил Ліпінського, Гозе, Вебера, Ігана, Мугге. Беручи до уваги індекс біодоступності, наявність структурних сигналів PAINS і попереджень Бренка, це свідчить про хорошу прогнозовану лікоподібність і можливу фармакологічну активність. Сполука **11** мала два порушення: відхилення від правила Вебера (кількість обертових зв'язків >10) та перевищення граничного значення XLogP3 >5; на підставі цих даних дійшли висновку про підвищену ліпофільність (табл. 12).

Для всіх сполук індекс біодоступності прогнозований на рівні 0,55, що є прийнятним значенням для потенційного перорального застосування. Структурний аналіз PAINS виявив лише одну сполуку (**1**) з фрагментом, що може призводити до хибнопозитивних результатів – наявність тіольної групи. Попередження Бренка виявлено також лише для сполуки **1**, а інші сполуки не містили структур, що зазвичай асоціюються з потенційною

Таблиця 12. Лікоподібність досліджених сполук

№	Фільтр					Біодоступність	PAINS	Попередження Бренка
	Ліпінського	Гоце	Вебера	Ігана	Мугге			
1	+	+	+	+	MW>200	0,55	0	1 (тіол)
2	+	+	+	+	MW >200	0,55	0	0
3	+	+	+	+	+	0,55	0	0
4	+	+	+	+	+	0,55	0	0
5	+	+	+	+	+	0,55	0	0
6	+	+	+	+	+	0,55	0	0
7	+	+	+	+	+	0,55	0	0
8	+	+	+	+	+	0,55	0	0
9	+	+	+	+	+	0,55	0	0
10	+	+	+	+	+	0,55	0	0
11	+	+	Rotors >10	+	XLogP3 >5	0,55	0	0

токсичністю або несприятливими фармакологічними властивостями (табл. 12).

Сполуки 3–10 мають найсприятливіший лікоподібний профіль: вони відповідають усім фільтрам і не мають структурних застережень. Сполука 1, хоча й загалом відповідає більшості правил, характеризується наявністю тіольної групи та дещо зниженою молекулярною масою. Сполука 11 має найменшу відповідність критеріям лікоподібності через надмірну ліпофільність і велику кількість обертових зв'язків.

## Обговорення

Результати досліджень свідчать, що збільшення довжини тіоалкільного замісника у положенні 3 1,2,4-тріазольного циклу супроводжуватиметься зниженням токсичності для ссавців, що, зокрема, індукується підвищенням значень LD<sub>50</sub>. Ймовірно, такий ефект може бути зумовлений зменшенням абсорбції або зниженням біодоступності сполук при введенні *per os*.

Водночас імовірно є протилежна тенденція для водних організмів: зі збільшенням довжини тіоалкільного ланцюга токсичність для *Daphnia magna* підвищується. Це, ймовірно, пов'язано з вищою ліпофільністю сполук, що сприяє ефективнішому проникненню через біологічні мембрани та накопиченню в організмі.

Результати *in silico* аналізу свідчать, що всі досліджені похідні 1,2,4-тріазолу мали позитивний прогноз мутагенності з імовірністю у межах від 0,64 до 0,94, що свідчить про потенційний ризик генотоксичного впливу. Встановлено, що характер і довжина тіоалкільного замісника в положенні 3 1,2,4-тріазольного кільця впливають на ймовірність виникнення мутагенних властивостей. Сполуки з коротколанцюговими тіоалкільними замісниками (метил-, етил-, пропіл-, бутіл-) характеризувалися відносно нижчими значеннями (0,64–0,93), і найнижчий показник зафіксовано для етилтіопохідного (сполука 3, 0,64). Це можна пояснити оптимальним співвідношенням

електронних і стеричних ефектів. Для сполук із середньоланцюговими замісниками (пентил-, гексил-, гептил-) зафіксовано стабільно високі значення мутагенності (0,84–0,85), а похідні з довголанцюговими тіоалкільними замісниками (октил-, ноніл-, декіл-) характеризувалися максимальними показниками (0,92–0,94). Така тенденція може бути зумовлена збільшенням гідрофобності молекул, підвищенням їхньої мембранотропності та здатністю взаємодіяти з нуклеофільними центрами біомакромолекул. Загалом виявлено кореляцію між подовженням тіоалкільного ланцюга та підвищенням імовірності мутагенності, однак винятком є сполука 3, для якої зафіксовано мінімальне значення, що може свідчити про існування певного структурного оптимуму, за якого ризик мутагенної дії знижується.

Результати молекулярного докінгу показали потенційну біологічну активність досліджених сполук щодо ферменту ЦОГ-2. Хоча жодна з них не досягла рівня зв'язування референтного інгібітора (целекоксибу), окремі молекули (4, 7 та 8) характеризувалися відносно високою спорідненістю до активного сайту ферменту. Це дає підстави визначити їх як перспективні кандидати для подальшої оптимізації.

Наявність характерних взаємодій, як-от амід-π стекінг із GLY A: 527, π-π стекінг із PHE A: 519 і π-катіонні контакти із залишками LYS, свідчать про здатність лігандів займати сприятливу орієнтацію в активному центрі ЦОГ-2. Подібність типів взаємодій до тих, що характерні для селективних інгібіторів, зокрема целекоксибу, підкреслює перспективність і значущість структурного ядра 1,2,4-тріазолу в дизайні нових інгібіторів ЦОГ-2.

Виявлений зв'язок між структурними особливостями похідних і їхньою здатністю до комплексоутворення з ферментом також може бути використаний для наступного спрямованого модифікування для покращення афінності та селективності.

Результати молекулярного докінгу підтвердили потенційну інгібувальну активність досліджених похідних

1,2,4-тріазолу щодо ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази. Незважаючи на те, що жодна з досліджених сполук не досягла афінності рівня флуконазолу (-10,9 ккал/моль), окремі молекули (сполуки **5**, **7**, **8** і **10**) показали відносно високу спорідненість до активного центру модельного ензиму. Комплексоутворення у *in silico* моделі здійснюється шляхом багатокомпонентної взаємодії, зокрема гідрофобних,  $\pi$ - $\pi$  стекингових,  $\pi$ -катионних і водневих зв'язків. Значну роль відіграє наявність у структурі ароматичних і тіоалкільних фрагментів, що сприяють ефективному розміщенню лігандів у межах гідрофобного домену білка. Особливої уваги заслуговує сполука **7**, що не лише утворює широкий спектр стабілізуювальних контактів з ланостерол 14 $\alpha$ -деметилазою, але й має найнижчу енергію зв'язування серед досліджених похідних. Наявність водневих зв'язків і  $\pi$ -катионної взаємодії з ключовими залишками свідчить про сприятливу просторову орієнтацію й потенційну селективність. Сполуки **5**, **8** і **10** також утворюють сприятливі взаємодії, що може бути основою для наступної структурної оптимізації для покращення інгібувальної здатності. Нижча спорідненість сполуки **11**, імовірно, пов'язана з несприятливими конформаційними характеристиками або нестачею критичних взаємодій.

Загалом результати докінгу підтвердили доцільність вивчення структур **5**, **7**, **8** і **10** як потенційних протигрибкових агентів, орієнтованих на інгібування ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази.

Згідно з результатами молекулярного докінгу, досліджені похідні 1,2,4-тріазолу, незважаючи на здатність утворювати різноманітні типи контактів з амінокислотами активного сайту АЛК, поступаються кризотинібу за енергією комплексоутворення. Ключовим чинником є не лише наявність певних взаємодій ( $\pi$ -катионних,  $\pi$ -аніонних, гідрофобних), але і їхня кількість, просторове розташування та енергетичний внесок.

Найперспективнішою є сполука **11**, що формує найбільшу кількість стабілізуювальних взаємодій, однак не досягає рівня афінності кризотинібу. Сполуки **7** та **9** також характеризуються значною спорідненістю, переважно внаслідок гідрофобних контактів, однак нестача електростатичних або водневих взаємодій обмежує стабільність їхніх комплексів.

Отже, хоча жодна з нових сполук не показала енергії зв'язування, що перевищує або дорівнює  $E_{\min}$  кризотинібу, сполуки **7**, **9** і **11** становлять інтерес для наступної структурної оптимізації. Так, доцільно передбачити введення функціональних груп, здатних утворювати водневі зв'язки з каталітичними амінокислотними залишками активного сайту АЛК, що може підвищити афінність і селективність потенційних інгібіторів.

Зростання ліпофільності внаслідок подовження тіоалкільного фрагмента є позитивним чинником для проникнення крізь клітинні мембрани, проте супроводжується збільшенням кількості обертових зв'язків, що може негативно впливати на проникність через ГЕБ і знижувати загальну біодоступність. TPSA <90 Å<sup>2</sup> для більшості сполук свідчить про їхню потенційну здатність

до ефективного всмоктування через кишковий епітелій після перорального введення. Винятком є сполука **11**, для якої підвищене значення TPSA може обмежувати її фармакокінетичні переваги.

Підвищення частки  $C_{sp}$  у структурі корелює з більшою тривимірністю молекул, що важливо в аспекті зменшення подібності до планарних структур, часто асоційованих із несприятливим токсикологічним профілем або зниженою селективністю. Цей фактор може відігравати важливу роль у подальшій оптимізації просторової структури лігандів.

Висока ліпофільність і подовжені алкільні ланцюги в сполуках **9–11** можуть знижувати їхню водорозчинність, що необхідно враховувати під час планування *in vitro* та *in vivo* експериментів. Натомість сполуки **2–5** характеризуються сприятливим балансом ключових параметрів, що робить їх перспективними для нових досліджень. Сполука **1**, зважаючи на її високу полярність і низьку молекулярну масу, може бути придатною для створення водорозчинних лікарських форм. Втім, її знижена ліпофільність може обмежувати проникність через біомембрани.

Одержані розрахункові результати очікувано підтверджують, що водорозчинність досліджуваних похідних 1,2,4-тріазолу прямо залежить від довжини тіоалкільного ланцюга. Сполуки **1–3** мають найкращі характеристики щодо розчинності, і це є позитивним чинником для їхньої потенційної біодоступності в разі перорального введення. Сполуки з довгими алкільними ланцюгами (**6–11**) можуть мати обмеження у фармацевтичному використанні через недостатню розчинність. У таких випадках доцільним може бути використання стратегій з підвищення розчинності: створення сольових форм, застосування супутніх допоміжних речовин або нанонесучих систем.

Результати дослідження показали чітку залежність ліпофільності досліджених сполук від їхньої хімічної структури, зокрема від наявності та довжини алкільних ланцюгів. Поступове зростання  $\log P_{ov}$  у дослідженому ряду сполук (**1–11**) вказує на вірогідне збільшення гідрофобного характеру молекул. Ліпофільність ( $\log P$ ) є критично важливим параметром, що визначає низку фармакокінетичних властивостей, зокрема абсорбцію, розподіл, проникнення через ГЕБ та зв'язування з білками плазми крові. Надмірна ліпофільність може спричиняти погіршення розчинності, збільшення тривалості затримки в організмі або токсичність через накопичення у жировій тканині.

Сполуки з  $\log P_{ov} > 3$  (**8–11**) характеризуються високою мембранною проникністю, однак потребують продовження вивчення щодо ризику біоаккумуляції та токсичної дії. З іншого боку, сполуки **3–7**, що мали значення  $\log P_{ov}$  у межах 1,5–3,0, можна вважати більш збалансованими за критеріями розчинність / проникність. Це робить їх перспективними кандидатами для наступної оптимізації як біоактивних сполук.

Визначено загалом сприятливі фармакокінетичні властивості досліджених сполук. Прогноз високого рівня

ШК адсорбції дає підстави очікувати хорошу біодоступність у разі перорального прийому. Здатність сполук **2–10** проникати через ГЕБ відкриває можливості для їх застосування при патологіях центральної нервової системи. Сполуки **I** і **II** потенційно менш нейротропні, що може бути корисним, коли необхідно обмежити вплив на центральну нервову систему. Відсутність субстратної активності щодо Р-gp є позитивною властивістю, оскільки знижує ризик ефлюксового виведення з клітин і пов'язаної з цим втрати ефективності.

Можливість інгібування ізоформ CYP450 мала чітку залежність від структурної складності та гідрофобності молекул. Більш ліпофільні молекули (**8–11**) показали здатність до інгібування кількох ізоферментів, зокрема CYP2C19, CYP2C9 та CYP2D6. Це може бути важливим для потенційних лікарських взаємодій. Разом із тим, імовірна відсутність інгібування CYP3A4 у всіх сполук є позитивним фактором, оскільки цей фермент бере участь у метаболізмі понад 50 % лікарських засобів.

Зростання Log Kp у ряду сполук також є структурно обґрунтованим: із подовженням гідрофобного фрагмента збільшується ймовірність проникнення через шкіру, що може бути релевантним для альтернативних (трансдермальних) шляхів введення, хоча й потребує детального оцінювання токсикокінетики.

Загалом попередні результати свідчать про перспективність частини досліджених сполук (особливо **3–7**) в аспекті балансу адсорбції, проникності та профілю метаболізму, а для сполук **9–11** доцільно передбачити додаткову перевірку ризиків, пов'язаних із пригніченням CYP450.

## Висновки

1. Варіація тіоалкільного ланцюга S-алкілпохідних 5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу є ключовим фактором, що комплексно визначає їхню токсичність, фармакокінетичні властивості та біологічну активність: подовження знижує токсичність для ссавців, але підвищує ризики для водного середовища та не усуває загрозу мутагенності.

2. Досліджені сполуки характеризуються перспективним впливом щодо ЦОГ-2, ланостерол 14 $\alpha$ -деметилази та АЛК. Хоча жодна зі структур не досягла рівня афінності референтних інгібіторів, окремі молекули (**4**, **5**, **7**, **8**, **10** та **11**) мали значну спорідненість до активних центрів ферментів.

3. Фармакологічний профіль досліджених похідних 1,2,4-тріазолу загалом характеризується сприятливо, зокрема передбачається висока абсорбція у разі перорального введення та збалансоване співвідношення ліпофільності й проникності для сполук **3–7**.

4. Виявлені закономірності підтверджують потенціал 5-(пірол-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу як базової структурної платформи для розроблення нових інноваційних біоактивних сполук із протизапальною, протигрибковою та протипухлинною активністю.

## Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

## Відомості про автора:

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

## Information about the author:

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



Тетяна Британова (Tetiana Brytanova)  
goculyats@ukr.net

## References

- Garg A, Shoeb A, Moodahadu LS, Sharma A, Gandhi A, Akku S. Amlolmetin: A reappraisal of NSAID with gastroprotection. *Arthritis*. 2016;2016:7103705. doi: 10.1155/2016/7103705
- 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
- Sousa JL, Albuquerque HM, Silva AM. 6-[(2S,3R)-3-(2,4-Difluorophenyl)-3-hydroxy-4-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-yl]-5-fluoropyrimidine-4-carbaldehyde. *Molbank*. 2023;2023(1):1603. doi: 10.3390/M1603
- Ameziane El Hassani I, Rouzi K, Ameziane El Hassani A, Karrouchi K, Ansar M. Recent developments towards the synthesis of triazole derivatives: A review. *Organics*. 2024;5(4):450-71. doi: 10.3390/org5040024
- Shcherbina R, Kalchenko V, Kulish S, Salionov V, Morozova L, Nedorezaniuk N, et al. Synthesis, characterization, molecular docking studies of new alkyl derivatives of 5-(2-bromo-4-fluorophenyl)-4-ethyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. *Ceska Slov Farm*. 2023;72(4):190-200.
- Dovbnia DV, Kaplaushenko AH, Frolova YS. A study of hypoglycemic activity of acids and salts containing 1,2,4-triazole. *Ceska Slov Farm*. 2023;72(3):113-24.
- Safonov AA. Method of synthesis novel N'-substituted-2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetohydrazides. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2020;44(2):242-52. doi: 10.33483/jfpau.580011
- Karpenko Y, Hunchak Y, Gutyj B, Hunchak A, Parchenko M, Parchenko V. Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazine 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022;2(36):18-25. doi: 10.15587/2519-4852.2022.255848
- Chekman IS, Nebesna Tlu, Symonov PV. *In silico*: novyi napriam v rozrobttsi farmakolohichnykh ta farmatsevtichnykh vlastyvostei likarskykh zasobiv [In silico: a new direction in the development of pharmacological and pharmaceutical properties of drugs]. *Klinichna farmatsiia*. 2012;16(2):4-14. Ukrainian. Available from: <https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/04/04-14.pdf>
- ChemAxon. MarvinSketch, Version 6.3.0. [Software]. 2015. Available from: <http://www.chemaxon.com>
- Worldwide Protein Data Bank. (n.d.). Protein Data Bank (PDB) [Database]. Available from: <http://www.pdb.org>
- Biovia. Discovery Studio Visualizer, v 19.1.0.18287 [Software]. 2019. Available from: <http://www.3dsbiovia.com>



# Синтез 1-нафтиламідів 2-іміно-2H-хромен-3-карбонових кислот та їхній вплив на проліферацію клітинних культур ракових пухлин

I. Є. Билів<sup>1</sup>, A.B.C.D.F., С. М. Коваленко<sup>2</sup>, A.B.E., С. В. Баюрка<sup>1</sup>, B.E.

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків, <sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, 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** – пошук нових фармакологічно активних речовин серед похідних 2-іміно-2H-хромен-3-карбонових кислот, а саме синтез 1-нафтиламідів цих кислот і дослідження їхнього впливу на проліферацію ракових клітин.

**Матеріали і методи.** Здійснено органічний синтез, будову синтезованих сполук підтверджено за допомогою інструментальних методів аналізу, проведено фармакологічний скринінг.

**Результати.** Взаємодією 1-нафтиламіну з етилціаноацетатом при нагріванні добуто N-(1-нафтил)ціаноацетамід, який конденсацією із саліциловими альдегідами за умов реакції Кньюенагеля перетворювали на N-(1-нафтил)аміди 2-іміно-2H-хромен-3-карбонових кислот. Реакцію проводили в середовищі 2-пропанолу за наявності піперидину як каталізатора. Досліджено *in vitro* вплив синтезованих сполук на проліферацію клітинних культур найбільш поширених пухлин людини: лейкомії (6 різновидів), раку легенів (9), товстої кишки (7), нирки (8), яєчника (6), простати (2), молочної залози (8), пухлин центральної нервової системи (6), меланоми (8). Ефект оцінювали шляхом порівняння оптичної густини клітинних культур із тестовим барвником (сульфородаміном Б) перед експозицією з розчином тестованої сполуки в диметилсульфоксиді та після неї.

**Висновки.** За даними тестів *in vitro* на клітинних культурах злоякісних пухлин людини встановлено, що найбільшу активність серед синтезованих речовин мають 7-гідрокси-2-іміно-2H-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (4d), який істотно пригнічує розвиток більшості культур ( $GI_{50}$  1,5–4,5 мкМ) та за силою дії дорівнює, а для багатьох клітинних культур навіть перевищує дію препарату порівняння, та 6-метокси-2-іміно-2H-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (4b), який характеризується значною тропністю та ефективністю щодо клітинних культур раку молочної залози ліній MDA-MB-435 ( $GI_{50}$  0,32 мкМ) та MDA-N ( $GI_{50}$  0,46 мкМ), в рази перевищуючи дію препарату порівняння. Експериментально доведено, що наявність гідроксильної групи в положенні 7 2H-хромену збільшує активність, що корелює з даними наукової літератури щодо здатності схожих амідів до пригнічення активності ферментів групи тирозин-кіназ.

**Ключові слова:** органічний синтез, 2-іміно-2H-хромен, кумарин-3-карбонова кислота, 1-нафтиламід, антипроліферативна активність, протипухлинні агенти.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 130-137

## Synthesis of 2-imino-2H-chromene-3-carboxylic acids 1-naphthylamides and their effect on the proliferation of cancer cell lines

I. Ye. Bylov, S. M. Kovalenko, S. V. Baiurka

**Aim.** The study aimed to identify new pharmacologically active compounds among derivatives of 2-imino-2H-chromene-3-carboxylic acids, specifically through the synthesis of 1-naphthylamides of these acids and evaluation of their effects on cancer cell proliferation.

**Materials and methods.** Organic synthesis was performed, and the structures of the synthesized compounds were confirmed using instrumental analytical techniques. Pharmacological screening was subsequently conducted.

**Results.** N-(1-naphthyl)cyanoacetamide was obtained by reacting 1-naphthylamine with ethyl cyanoacetate under heating. This intermediate was then converted into N-(1-naphthyl)amides of 2-imino-2H-chromene-3-carboxylic acids via Knoevenagel condensation with salicylic aldehydes. The reaction was carried out in 2-propanol with piperidine as a catalyst. The *in vitro* antiproliferative activity of the synthesized compounds was tested against cell lines of common human tumors: leukemia (6 lines), lung cancer (9), colon cancer (7), renal cancer (8), ovarian cancer (6), prostate cancer (2), breast cancer (8), CNS tumors (6), and melanoma (8). Activity was assessed by comparing the optical density of cell cultures stained with sulforhodamine B before and after exposure to the test compounds dissolved in dimethyl sulfoxide.

**Conclusions.** *In vitro* testing revealed that 7-hydroxy-2-imino-2H-chromene-3-[N-(1-naphthyl)]carboxamide (4d) exhibited the highest activity, significantly inhibiting the growth of most cultures ( $GI_{50}$  1.5–4.5  $\mu$ M), with potency equal to or exceeding that of the reference drug.

### ARTICLE INFO

UDC 547.814.1'298.1.057:615.277.3

DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.355802

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):130-137

**Keywords:** organic synthesis, 2-imino-2H-chromenes, coumarin-3-carboxylic acid, 1-naphthylamides, antiproliferative activity, antitumor agents.

Received: 30.03.2026 // Revised: 20.05.2026 // Accepted: 28.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Furthermore, 6-methoxy-2-imino-2*H*-chromene-3-[N-(1-naphthyl)]carboxamide (4b) showed pronounced selectivity and efficacy against breast cancer cell lines MDA MB 435 ( $GI_{50}$  0.32  $\mu$ M) and MDA N ( $GI_{50}$  0.46  $\mu$ M), surpassing the reference drug severalfold. These findings experimentally confirm that the presence of a hydroxyl group at the 7<sup>th</sup> position of the 2*H*-chromene ring enhances activity, consistent with literature reports on the ability of related amides to inhibit tyrosine kinase enzymes.

**Keywords:** organic synthesis, 2-imino-2*H*-chromenes, coumarin-3-carboxylic acid, 1-naphthylamides, antiproliferative activity, antitumor agents.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):130-137**

У попередніх роботах доведено, що аміді 2-оксо-2*H*-хромен-3-карбонових кислот (кумарин-3-карбонових кислот) та їхні 2-іміно аналоги характеризуються протизапальною [1] та протимікробною [2] діями. За даними фахової літератури, окремі аміді цих кислот є селективними інгібіторами ацетилхолін естерази [3], моноаміноксидази В [4], фактора XII згортання крові [5] та мають фунгіцидну дію [6,7].

Кумарин та його похідні успішно використовують в експериментальній онкології. Відомо, що він пригнічує розвиток клітинних культур пухлин нирки, карциноми простати, раку молочної залози, а також меланоми [8]. За даними, що отримали U. S. Weber et al., кумарин та 7-гідроксикумарин активні також щодо кишкової карциноми (Caco-2), гепатоми (HepG2) та лімфобластоми (CCRF CEM) [9].

Щодо можливих механізмів впливу похідних 2*H*-хромену на проліферацію новоутворень отримано різні дані. Доведено, що 2-іміно-2*H*-хромен-3-карбоксаміді здатні до активної взаємодії з ферментами групи тирозинкіназ [10,11]. Відомо, що активність істотно залежить від розташування та кількості гідроксильних груп. Найбільш активними є аміді **I** (рис. 1) з двома гідроксильними групами в 5(7)-положенні кумаринового ядра та гідроксильом в 3' або 4' положеннях фенолу в амідній групі [11]. Отримано також дані про вплив окремих похідних кумарин-3-карбоксамідів на апоптоз (сполука **II**, рис. 1) [12] та ангіогенез у новоутвореннях [13].

Останнім часом опубліковано кілька праць про вплив похідних 2*H*-хромен-3-карбонових кислот на проліферацію клітинних культур злоякісних пухлин людини (рис. 1). Наприклад, показано, що амід **III** пригнічує розвиток культур НСТ та A2780 [14], сполука **IV** активна щодо культур НСТ-116, MDA-MB-231, HepG2 та MCF-7 [12], амід **V** пригнічує розвиток культур HepG2 та HeLa [15], амід **VI** пригнічує розвиток культури HeLa [16], сполука **VII** впливає на проліферацію клітин HeLa та MCF-7 [17], а естер **VIII** – MCF-7, HepG2, НСТ-116 та HeLa [18].

Отже, доцільним є дослідження протипухлинної дії похідних 2*H*-хромен-3-карбонових кислот, оскільки можливість варіації замісників у двох циклах системи зумовлює здатність цих речовин активно взаємодіяти з різноманітними білковими мішенями та впливати на різні етапи онкогенезу.

## Мета роботи

Пошук нових фармакологічно активних речовин серед похідних 2-іміно-2*H*-хромен-3-карбонових кислот, а саме синтез 1-нафтиламідів цих кислот і дослідження їхнього впливу на проліферацію ракових клітин.

## Матеріали і методи дослідження

Усі розчинники та реагенти одержано з комерційних джерел. Інфрачервоні (ІЧ) спектри вимірювали на спектрофотометрі Specord M80 у таблетках KBr (концентрація

1

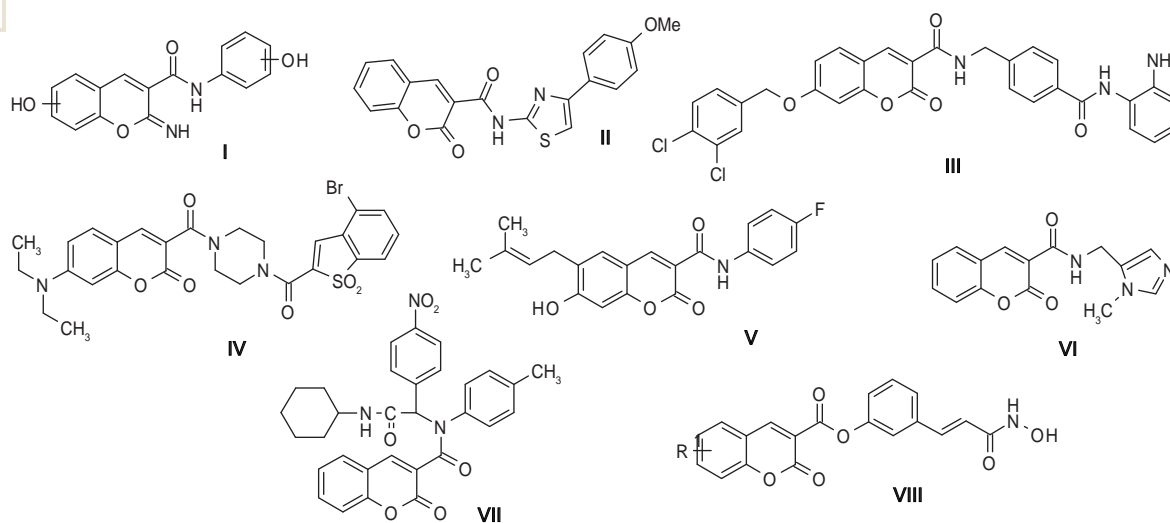
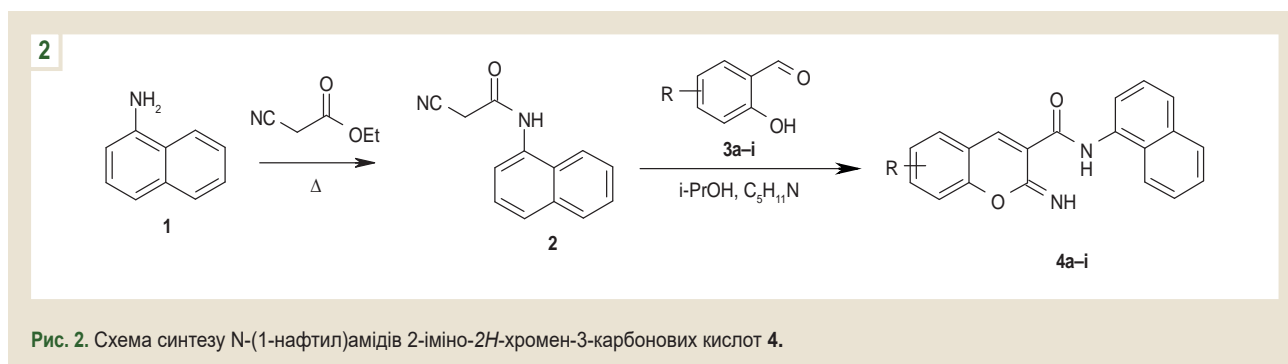


Рис. 1. Приклади біологічно активних похідних 2-іміно(оксо)-2*H*-хромен-3-карбонових кислот.



речовини 1 %). Спектри  $^1\text{H}$  ЯМР записано на приладі Varian WXR-400 в ДМСО- $d_6$  (якщо не наведено інший розчинник), внутрішній стандарт – ТМС. Температуру плавлення визначали на приладі Кофлера.

Вплив синтезованих сполук на проліферацію клітинних культур людських пухлин вивчали в Національному інституті раку США (NCI) за стандартною методикою [19] у 1996–2000 роках. У первинному скринінгу сполуки тестують на трьох клітинних культурах: раку легенів (NCI-H460), раку молочної залози (MCF7), пухлини мозку (SF-268). Якщо речовина виявляє активність, її тестують на панелі з 60 клітинними культурами: лейкемії (6 ліній), раку легенів (9), товстої кишки (7), нирки (8), яєчника (6), простати (2), молочної залози (8), пухлин центральної нервової системи (6), меланоми (8). Протираковий ефект оцінювали за цитопатичним впливом тестованої речовини на проліферацію клітинних культур пухлин. Метод передбачає порівняння оптичної густини клітинних культур із тестовим барвником (сульфородаміном Б) перед експозицією з розчином тестованої сполуки в диметилсульфоксиді та через 48 годин.

Показовим у цьому експерименті є значення відсотка росту клітинної культури, що обчислюють за даними вимірювань оптичної густини:  $D_0$  – оптична густина середовища перед експозицією клітин;  $D_{\text{тест}}$  – оптична густина середовища після 48-годинної експозиції клітин зі сполукою, яку тестують;  $D_{\text{контр}}$  – оптична густина середовища після 48-годинної експозиції клітин без додавання сполуки, яку тестують.

Залежно від результатів тесту обчислення відсотка росту (ВР) здійснюють за формулами:

$$\text{ВР} = 100 \times (D_{\text{тест}} - D_0) / (D_{\text{контр}} - D_0),$$

якщо  $(D_{\text{тест}} - D_0) \geq 0$  (1),

$$\text{ВР} = 100 \times (D_{\text{тест}} - D_0) / D_0,$$

якщо  $(D_{\text{тест}} - D_0) < 0$  (2).

За обчисленими відсотками росту для 5 молярних концентрацій тестованої сполуки будують графік залежності ВР від концентрації речовини для кожної клітинної культури пухлин. За даними графіка отримують три характеристичні константи:  $\text{PP}_{50}$  ( $\text{GI}_{50}$ ) – пригнічення росту 50 % клітин (концентрація, за якої ВР дорівнює 50);  $\text{ППР}$  (TGI) – повне пригнічення росту клітин (концентрація, за

якої ВР дорівнює 0);  $\text{ЛК}_{50}$  ( $\text{LC}_{50}$ ) – летальна 50 % концентрація (концентрація, за якої ВР дорівнює -50).

## Результати

Взаємодією 1-нафтиламіну 1 з етилціаноацетатом при нагріванні отримано N-(1-нафтил)ціаноацетамід 2, який конденсацією із саліциловими альдегідами 3a-i за Кнью-венгелем [11] перетворювали на N-(1-нафтил)аміди 2-іміно-2H-хромен-3-карбонових кислот 4a-i (рис. 2). Реакцію проводили в середовищі 2-пропанолу за наявності піперидину як каталізатора.

Отримані сполуки – жовті або жовтуваті кристалічні речовини, нерозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках (діоксані, бутанолі-1, пропанолі-2). Їхні фізико-хімічні властивості наведено в таблиці 1.

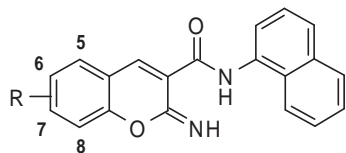
ІЧ-спектри 2-іміно-2H-хромен-3-N-R-карбоксамідів 4 (табл. 1) характеризуються наявністю розширених смуг валентних коливань  $\nu_{\text{N-H}}$  у межах 3330–3040  $\text{cm}^{-1}$ , інтенсивної смуги валентних коливань  $\nu_{\text{C=O}}$  амідної групи в межах 1690–1660  $\text{cm}^{-1}$  та смуги помірної інтенсивності в межах 1610–1565  $\text{cm}^{-1}$  коливань  $\nu_{\text{C-C}}$ . В ІЧ-спектрі 7-діетиламіно-2-імінокумарину 4f – смуга помірної інтенсивності при 2964  $\text{cm}^{-1}$ . В ІЧ-спектрі 7-гідроксизаміщеної сполуки 4d наявна широка смуга середньої інтенсивності валентних коливань зв'язку O-H ( $\nu_{\text{O-H}}$ ) при 3186  $\text{cm}^{-1}$ .

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР 2-іміно-2H-хромен-3-карбоксаміду 4a характеризується наявністю 7 сигналів ароматичних протонів нафталенового радикалу в амідній групі, які перекриваються із 4 сигналами протонів бензенного циклу 2H-хромену (табл. 2). Введення різних замісників у ядро 2H-хромену призводить до зміни мультиплетності сигналів протонів та зсуву їх у більш слабкі або сильні поля залежно від електронної природи цих замісників. Крім того, з'являються сигнали протонів самого замісника.

Отже, за результатами аналізу даних  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрів, для сполук 4 (табл. 2) характерними є дещо розширені сигнали протона NH амідної групи – трохи більше ніж 13 м. ч. та іміногрупи – близько 9 м. ч., а також синглетний сигнал протона  $\text{H}_4$  хроменого ядра у діапазоні 9,3–8,5 м. ч.

При реєстрації спектра  $^1\text{H}$  ЯМР амідів 4 в  $\text{CDCl}_3$  з додаванням  $\text{CF}_3\text{COOD}$  якість спектрів покращується через більшу розчинність, але при цьому стає неможливою реєстрація сигналів кислих протонів (NH амідної та іміногруп) через швидкий дейтерообмін.

Таблиця 1. Фізико-хімічні характеристики 2-іміно-2H-хромен-3-карбоксамідів 4



Сполука	R	Вихід, % (*)	Молекулярна формула, М. М.	T <sub>пл</sub> , °C	ІЧ-спектр (KBr), см <sup>-1</sup>				
					v <sub>N-H</sub>	v <sub>C-H</sub>	v <sub>C=O</sub>	v <sub>C=N</sub>	v <sub>C=C</sub>
4a	H	93 (діоксан)	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 314,35	251–53	3291 3053	3013	1678	1636	1605
4b	6-OCH <sub>3</sub>	86 (2-пропанол)	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 344,37	188-90	3319 3038	3012	1684	1632	1564
4c	6-Cl	82 (1-бутанол)	C <sub>20</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 348,79	183-4	3318 3042	3018	1688	1640	1564
4d	7-OH	78 (1-бутанол)	C <sub>21</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 330,35	230–31	3319 3050**	3006	1666	1633	1601
4e	7-OCH <sub>3</sub>	81 (1-бутанол)	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 344,37	192-94	3302 3041	2941	1685	1628	1563
4f	7-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	84 (2-пропанол )	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> 385,47	176–78	3310 3049	2964	1678	1632	1598
4g	6,8-диCl	80 (1-бутанол)	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 383,24	239–41	3319 3047	3018	1686	1639	1563
4h	8-OCH <sub>3</sub>	76 (діоксан)	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 344,37	244-47	3326 3054	3009	1688	1640	1564
4i	5,6-бензо	87 (1-бутанол)	C <sub>24</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 364,41	245-46	3242	3020	1678	1638	1562

\*: розчинник для перекристалізації; \*\*: v<sub>O-H</sub> при 3186 см<sup>-1</sup>.

Таблиця 2. Дані спектрів <sup>1</sup>H ЯМР 2-іміно-2H-хромен-3-карбоксамідів 4

Сполука	Хімічний зсув, δ, м. ч.				Інші протони
	-NH- (розш.с.)	=NH (розш.с.)	(1H, с, H <sub>d</sub> )	H <sub>аром</sub>	
4a*	–	–	9,33	8,06 (1H, т), 8,00–7,93 (3H, м), 7,81–7,70 (3H, м), 7,58–7,53 (4H, м)	–
4f	13,12	8,78	8,47 (2H, м), 8,26 (1H, д), 7,98 (1H, д), 7,72 (1H, д), 7,63–7,52 (4H, м), 6,68 (1H, д), 6,42 (1H, с)	3,48 (4H, к, N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 1,18 (6H, т, N(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	
4h	13,18	9,11	8,60	8,41 (1H, д), 8,20 (1H, д), 7,84 (1H, д), 7,68–7,42 (4H, м), 7,32–7,18 (3H, м)	3,94 (3H, с, OCH <sub>3</sub> )
4i	13,30	9,26 (2H, розш. с.)		8,48 (2H, м); 8,28–8,16 (2H, м); 8,07–7,91 (2H, м); 7,78–7,46 (7H, м)	–

\*: спектр зареєстровано в CDCl<sub>3</sub> з додаванням CF<sub>3</sub>COOD.

## Обговорення

Результати первинного скринінгу показали, що аміді **4a**, **4c**, **4e**, **4h** та **4i** не мали істотного впливу на проліферацію всіх трьох клітинних культур пухлин і лише почасті пригнічували розвиток клітин пухлини молочної залози лінії MCF-7 (сполука **4c** – істотно). Інші речовини, за результатами первинного скринінгу, використано у до-

слідженні на повній панелі з 60 клітинними культурами. Результати тестів сполук **4** наведено в *таблицях 3–5*; для порівняння наведено дані тестування протиухлинного препарату 6-меркаптопурину (6-МП).

За даними, що наведено в *таблиці 3*, лише амід **4d** в ефективних концентраціях пригнічував розвиток використаних під час експерименту клітинних культур лей-

Таблиця 3. Пригнічення розвитку клітинних культур пухлин\*

Сполука	Клітинні культури лейкемії						
	CCRF-CEM	HL-60 (ТВ)	K-562	MOLT-4	RPMI-8226	SR	
4b	2,33	23,7	0,53	14,1	–	0,29 (28,5)	
4d	1,52 (4,16) [17,2]	1,58 (5,99)	3,20 (18,3)	2,54 (12,5)	4,44	2,25 (7,83)	
4g	–	–	–	–	–	–	
4h	2,49 (7,61) [68,1]	12,5	28,0	16,9	10,0 (53,3)	91,6	
6-МП	1,22	2,30	0,35	1,51	1,75	1,27	
Сполука	Клітинні культури пухлин центральної нервової системи						
	SF-268	SF-295	SF-539	SNB-19	SNB-75	U251	
4b	25,9	5,41 (25,4) [70,8]	15,3	15,3 (48,0)	10,2 (32,9)	13,0 (50,2)	
4d	1,79 (34,0)	3,83 (15,1) [48,3]	–	4,67 (47,5)	1,82 (5,96) [51,2]	3,52 (13,1) [48,0]	
4g	–	46,5	73,0	52,9	–	48,4	
4h	15,0	24,5	–	36,0	3,48 (13,1) [60,4]	3,91 (13,4) [41,4]	
6-МП	4,03	5,36	2,38	–	7,93	11,7	
Сполука	Клітинні культури раку яєчника						
	IGROV1	OVCAR-3	OVCAR-4	OVCAR-5	OVCAR-8	SK-OV-3	
4b	–	10,4 (30,8) [91,6]	15,5 (40,3)	41,3	–	15,5 (92,7)	
4d	2,87 (12,9) [67,1]	2,84 (7,77) [44,2]	3,48 (26,1)	7,65 (25,5) [72,6]	3,56 (15,2) [56,7]	3,57 (14,2) [46,7]	
4h	4,86 (21,0) [80,8]	3,86 (16,0) [54,0]	2,32 (5,13) [14,1]	19,7	4,10 (19,2) [75,5]	15,5 (60,3)	
6-МП	8,59	0,71	7,11	7,85	2,44	0,97	
Сполука	Клітинні культури раку товстої кишки						
	COLO 205	HCC-2998	HCT-116	HCT-15	HT29	KM-12	SW-620
4b	–	58,8	27,6	1,61	15,1	27,7	7,57
4d	17,0 (41,6)	2,17 (6,41) [23,5]	2,91 (11,6) [34,0]	2,13 (8,60) [29,6]	5,64 (22,0) [67,4]	3,53 (13,1) [72,9]	2,51 (33,1)
4h	15,9	5,62 (35,5)	4,36 (22,8)	11,6	35,0	50,1	3,00 (26,2)
6-МП	4,68	3,49	2,33	4,38	3,98	7,31	6,82

\*: GI<sub>50</sub> (TGI), [LC<sub>50</sub>], мкМ (концентрації наведені лише у випадку, якщо вони <100 мкМ).

кемії. Більшість клітинних культур пухлин центральної нервової системи виявились доволі чутливими до невеликих концентрацій аміду **4d**, вибірково – до амідів **4b** і **4h**.

Сполуки **4d** та **4h** характеризуються значною активністю щодо клітинних культур раку яєчника, які застосовані в експерименті (табл. 3). Зауважимо, що ці сполуки спричиняють регресію більшості пухлинних культур цього типу раку.

Наведені дані свідчать, що клітинні культури раку товстої кишки є чутливими лише до ефективних концентрацій аміду **4d**, який може спричинити не лише регресію пухлинних клітин, але й їх часткову загибель.

Клітинні культури меланоми були чутливими лише до ефективних концентрацій аміду **4d**, який може викликати не лише їх регресію, але й часткову загибель.

За даними, що наведені в таблиці 4, більшість різновидів пухлин нирки виявились найбільш чутливими до

аміду **4d**, який характеризувався також досить ефективними летальними концентраціями. Амід **4h** пригнічував проліферацію клітин у дещо вищих концентраціях, але також чинив летальну дію. Дія аміду **4b** поступалась і за рівнем, і за широтою впливу.

Рак молочної залози – найбільш перспективний різновид пухлин для терапії синтезованими сполуками (табл. 4). Якщо амід **4d** пригнічував розвиток більшості культур і викликав їхню часткову регресію у концентраціях на рівні (або менше), ніж у препараті порівняння, то активність аміду **4b** щодо культур MDA-MB-435 та MDA-N значно перевищує дію 6-меркаптопурину. Дія аміду **4h** поступалась і за рівнем, і за широтою впливу.

Значний вплив на більшість клітинних культур недрібноклітинного раку легенів мав амід **4d**, який спричиняв також регресію більшості пухлин цього типу. Клітинні

Таблиця 4. Пригнічення розвитку клітинних культур пухлин\*

Сполука	Клітинні культури меланоми							
	LOX IMVI	MALME-3M	M14	SK-MEL-2	SK-MEL-28	SK-MEL-5	UACC-257	UACC-62
13	–	8,65 (49,8)	17,9	18,9	–	–	32,0	2,47 (17,1) [48,0]
4d	4,32 (16,3) [56,1]	0,16 (6,18)	4,33 (83,4)	4,78 (32,5)	–	3,90 (14,7) [41,0]	8,29 (29,5) [46,4]	2,34 (8,26) [37,3]
4g	30,5	38,8	–	–	58,4	43,1	–	63,3
6-МП	0,35	4,28	0,67	5,80	–	8,59	14,2	1,63
Сполука	Клітинні культури пухлин нирки							
	786-0	A498	ACHN	CAKI-1	RFX 393	SN12C	TK-10	UO-31
4b	11,8 (28,0) [66,3]	13,2 (39,2)	25,5	29,5	4,69 (20,0) [58,5]	37,8	19,8 (51,1)	13,0 (30,5) [71,6]
4d	2,93 (13,3) [44,8]	6,0 (19,0) [51,3]	3,51 (13,0) [56,4]	4,17 (15,0) [46,2]	2,96 (11,5) [44,6]	2,57 (11,8) [62,9]	3,00 (7,08) [34,2]	3,44 (17,5) [71,0]
4h	11,3 (29,0) [74,1]	13,0(29,4) [66,6]	4,76 (18,1) [61,7]	13,5 (45,8)	18,5 (65,6)	5,63 (24,9) [97,0]	2,46 (5,12) [12,2]	30,1
6-МП	1,87	57,4	6,30	2,35	27,2	22,6	1,82	6,52
Сполука	Клітинні культури молочної залози							
	MCF-7	NCI/ADR-RES	MDA-MB-231/ ATCC	HS 578T	MDA-MB-435	MDA-N	BT-549	T-47 D
4b	5,71 (63,9)	25,8	26,0 (79,1)	30,2 (72,1)	0,32 (11,1) [62,0]	0,46 (18,8)	55,8	23,6
4d	2,84 (11,9) [59,4]	1,62 (3,97) [9,74]	2,39 (7,06) [32,8]	0,53 (6,10)	1,95 (5,29)	1,73 (7,93)	1,60 (8,36) [44,8]	3,23 (12,6)
4h	28,7	5,17 (27,3)	8,42 (29,0) [96,9]	4,52 (28,3)	34,4	45,6	43,7	4,82 (20,3) [94,3]
6-МП	1,40	3,18	16,4	15,7	1,40	1,50	–	2,68

\*:  $GI_{50}$  (TGI),  $[LC_{50}]$ , мкМ (концентрації наведено лише у разі, якщо вони <100 мкМ).

Таблиця 5. Пригнічення розвитку клітинних культур пухлин\*

Сполука	Клітинні культури раку легенів								
	A549 / ATCC	EKVX	HOP-62	HOP-92	NCI-H226	NCI-H23	NCI-H322M	NCI-H460	NCI-H522
4b	25,1	38,1	11,0 (26,9) [66,3]	–	25,5	29,4	56,7	3,95	–
4d	3,42 (18,5)	2,45 (6,76) [41,8]	5,20 (19,3) [54,0]	2,14 (6,32) [41,6]	3,17 (9,10) [81,2]	2,32 (8,49) [38,1]	4,25 (21,3)	3,80 (42,6)	0,95 (3,50)
6-МП	27,7	–	1,70	2,60	51,5	3,74	7,69	5,60	1,66
Сполука	Клітинні культури раку простати								
	PC-3				DU-145				
4b	12,3 (31,1) [78,5]				24,0				
4d	3,05 (10,2) [35,4]				3,00 (9,36) [38,3]				
6-МП	3,81				1,75				

\*:  $GI_{50}$  (TGI),  $[LC_{50}]$ , мкМ (концентрації наведені лише у разі, якщо вони <100 мкМ).

культури раку простати виявились чутливими лише до амідів **4d**, частково – до амідів **4b** (табл. 5).

Вплив замісників у бензеновому ядрі 2*H*-хромену є істотним: наявність гідроксильної групи в положенні 7 збільшує активність, що корелює із даними інших дослідників про активність схожих амідів щодо тирозинкінази [11]. Введення метоксигрупи в положення 6 дещо підвищує активність і впливає на тропність дії, особливо щодо окремих культур раку молочної залози.

Отже, за результатами тестів на клітинних культурах злоякісних пухлин людини виявлено, що найбільшу активність серед синтезованих речовин мають такі сполуки, як 7-гідрокси-2-іміно-2*H*-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (**4d**), що істотно пригнічує розвиток більшості культур ( $GI_{50}$  1,5–4,5 мкМ) та за силою дії дорівнює, а для багатьох клітинних культур навіть перевищує дію 6-меркаптопурину, та 6-метокси-2-іміно-2*H*-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (**4b**), який характеризується значною тропністю та ефективністю щодо клітинних культур раку молочної залози ліній MDA-MB-435 ( $GI_{50}$  0,32 мкМ) та MDA-N ( $GI_{50}$  0,46 мкМ), в рази перевищуючи дію 6-меркаптопурину.

## Експериментальна хімічна частина

**N-(1-нафтил)ціаноацетамід (2)**. 7,15 г (0,05 моль) 1-нафтиламіну змішують з 5,3 мл (0,05 моль) етилціаноацетату і кип'ятять протягом 90 хвилин. Після часткового охолодження додають 10 мл 2-пропанолу і повторно кип'ятять протягом 10 хвилин. Після повного охолодження відфільтровують осад, що випав. Висушують і перекристалізують із 2-пропанолу. Вихід – 8,9 г (84 %).  $T_{\text{пл}}$  183–185 °C. ІЧ-спектр: 3249 (NH), 3052 (CH), 2975 (CH), 2258 (C≡N), 1658 (C=O), 1553 (C=C).

**2-іміно-2*H*-хромен-3-(N-1-нафтил)карбоксамід (4a)**. 1,04 мл (0,01 моль) саліцилового альдегіду та 2,12 г (0,01 моль) N-(1-нафтил)ціаноацетаміду **2** розчиняють в 20 мл 2-пропанолу та додають 2–3 краплини піперидину. Розчин інтенсивно розмішують та залишають на 2 години. Осад, що випав, відфільтровують, висушують і перекристалізують із діоксану. Вихід – 2,92 г (93 %).

В аналогічний спосіб отримують сполуки **4b–4i**. Перекристалізують отримані сполуки із 2-пропанолу (**4b**, **4f**), 1-бутанолу (**4c–4e**, **4g**, **4i**) та діоксану (**4h**) (табл. 2).

## Висновки

1. Конденсацією N-(1-нафтил)ціаноацетаміду із саліциловими альдегідами за умов реакції Кньюенагеля отримано на N-(1-нафтил)аміди 2-іміно-2*H*-хромен-3-карбонових кислот, будову яких доведено за допомогою інструментальних методів аналізу.

2. Скринінг впливу синтезованих сполук на проліферацію клітинних культур найбільш поширених людських пухлин показав, що найбільшу активність мають 7-гідрокси-2-іміно-2*H*-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (**4d**), що суттєво пригнічує розвиток більшості культур ( $GI_{50}$  1,5–4,5 мкМ) та за силою дії дорівнює, а для багатьох

клітинних культур перевищує дію 6-меркаптопурину, та 6-метокси-2-іміно-2*H*-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамід (**4b**), який мав значну тропність і ефективність щодо культур раку молочної залози ліній MDA-MB-435 ( $GI_{50}$  0,32 мкМ) та MDA-N ( $GI_{50}$  0,46 мкМ), в рази перевищуючи дію 6-меркаптопурину.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати дослідження впливу синтезованих 2-іміно-2*H*-хромен-3-[N-(1-нафтил)]карбоксамідів на проліферацію клітинних культур пухлин *in vitro* підтверджують доцільність продовження вивчення протипухлинної дії найбільш активних сполук на моделях *in vivo*.

## Фінансування

Дослідження здійснено в межах базового фінансування Міністерства охорони здоров'я України та Міністерства освіти і науки України.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

## Етичне схвалення

Під час підготовки цієї наукової статті Комісія з питань біоетики Національного фармацевтичного університету розглянула матеріали, які в ній наведено, порушень не виявлено (протокол від 04.03.2026 року № 19).

## Подяки

Автори висловлюють подяку Drug Synthesis & Chemistry Branch, Developmental Therapeutic Program, Division of Cancer Treatment and Diagnosis National Cancer Institute (USA) за здійснення скринінгу антипроліферативної дії синтезованих сполук.

## Відомості про авторів:

Билів І. Є., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0001-7685-465X

Коваленко С. М., д-р хім. наук, професор каф. органічної хімії, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2222-8180

Баюрка С. В., д-р фарм. наук, професор каф. фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0001-7505-6322

## Information about the authors:

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

Kovalenko S. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Organic Chemistry, School of Chemistry, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

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



Igor Bylov (Igor Bylov)  
orgchem.bylov@gmail.com

## References

- Bylov IE, Vasylyev MV, Bilokin YV. Synthesis and Anti-inflammatory Activity of N-substituted 2-oxo-2*H*-1-benzopyran-3-carboxamides and Their 2-iminoanalogs. *Eur J Med Chem.* 1999;34(11):997-1001. doi: 10.1016/S0223-5234(99)00119-1

2. Bylov IE, Zhuravel IO, Bryzyska OA, Kolisnyk SV, Baiurka SV. Synthesis of phenyl esters 2-oxo-2H-1-benzopyran-3-carboxylic acids as promising antimicrobial agents. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2024;(3):30-6. doi: [10.32434/0321-4095-2024-154-3-30-36](https://doi.org/10.32434/0321-4095-2024-154-3-30-36)
3. Asadipour A, Alipour M, Jafari M, Khoobi M, Emami S, Nadri H, et al. Novel coumarin-3-carboxamides bearing N-benzylpiperidine moiety as potent acetylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2013;70:623-30. doi: [10.1016/j.ejmech.2013.10.024](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.10.024)
4. Mesiti F, Gaspar A, Chavarria D, Maruca, A Rocca R, Martins EG, et al. Mapping Chromone-3-Phenylcarboxamide Pharmacophore: Quid Est Veritas? *J Med Chem*. 2021;64:11169-82. doi: [10.1021/acs.jmedchem.1c00510](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00510)
5. Robert S, Bertolla C, Masereel B, Dogne J-M, Pochet L. Novel 3-Carboxamidocoumarins as Potent and Selective FXIIa Inhibitors. *J Med Chem*. 2008;51(11):3077-80. doi: [10.1021/jm8002697](https://doi.org/10.1021/jm8002697)
6. Çelik-onar H, Bayramoğlu G, Mataraci-kara E. Synthesis and antimicrobially activities of coumarin-3-carboxamide derivatives. *Rev Roum Chim*. 2023;68(1-2):85-9. doi: [10.33224/rch.2023.68.1-2.08](https://doi.org/10.33224/rch.2023.68.1-2.08)
7. Yu X, Teng P, Zhang YL, Xu ZJ, Zhang MZ, Zhang WH. Design, synthesis and antifungal activity evaluation of coumarin-3-carboxamide derivatives. *Fitoterapia*. 2018;127(6):387-95. doi: [10.1016/j.fitote.2018.03.013](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.03.013)
8. Shaheen HM, Nyemb JN, Segueni N, George J, Patil VR, Batiha GE. Anticancer Properties and Clinical Trials of Coumarins: A Review. *Free Radicals Antioxid*. 2022;12(2):41-8. doi: [10.5530/fra.2022.2.8](https://doi.org/10.5530/fra.2022.2.8)
9. Weber US, Steffen B, Siegers CP. Antitumor activities of coumarin, 7-hydroxycoumarin and its glucuronide in several human tumor cell lines. *Res Commun Molec Pathol Pharmacol*. 1998;99(2):193-206.
10. Burke TR, Lim B, Marquez VE, Zhen-Hong L, Bolen JB, Stefanova I, et al. Bicyclic compounds as ring-constrained inhibitors of protein – tyrosine kinase p56<sup>lck</sup>. *J Med Chem*. 1993;36(4):425-32. doi: [10.1021/jm00056a001](https://doi.org/10.1021/jm00056a001)
11. Huang CK, Wu FY, Ai YX. Polyhydroxylated 3-(N-phenyl) carbamoyl-2-iminochromene derivatives as potent inhibitors of tyrosine kinase p60c-src. *Bioorg Med Chem Lett*. 1995;5(20):2423-8. doi: [10.1016/0960-894X\(95\)00422-P](https://doi.org/10.1016/0960-894X(95)00422-P)
12. Koley M, Han J, Soloshonok VA, Mojumder S, Javahershenas R, Makarem A. Latest developments in coumarin-based anticancer agents: mechanism of action and structure-activity relationship studies. *RSC Med Chem*. 2023;15(1):10-54. doi: [10.1039/d3md00511a](https://doi.org/10.1039/d3md00511a)
13. Lakshmi Ranganatha V, Zameer F, Meghashri S, Rekha ND, Girish V, Gurupadaswamy HD, et al. Design, synthesis, and anticancer properties of novel benzophenone-conjugated coumarin analogs. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2013;346(12):901-11. doi: [10.1002/ardp.201300298](https://doi.org/10.1002/ardp.201300298)
14. Rawat A, Vijaya Bhaskar Reddy A. Recent advances on anticancer activity of coumarin derivatives *Eur J Med Chem Rep*. 2022;5:100038. doi: [10.1016/j.ejmcr.2022.100038](https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100038)
15. Phutdhawong W, Chuenchid A, Taechowisan T, Sirirak J, Phutdhawong WS. Synthesis and Biological Activity Evaluation of Coumarin-3-Carboxamide Derivatives. *Molecules*. 2021;26(6):1653. doi: [10.3390/molecules26061653](https://doi.org/10.3390/molecules26061653)
16. Shi J, Lu W, Chen J, Sun L, Yang S, Zhou M, et al. Synthesis, antiproliferative activities, and DNA binding of coumarin-3-formamido derivatives. *Arch Pharm*. 2021;354(2):2000236. doi: [10.1002/ardp.202000236](https://doi.org/10.1002/ardp.202000236)
17. Toolabi M, Basiri A, Yaghouti FD, Safdarian M, Ayati A, Mojaddami A. Coumarin derivatives as potential anticancer agents: Synthesis, antiproliferative activity, apoptosis, and molecular docking studies. *Results Chem*. 2025;16:102442. doi: [10.1016/j.rechem.2025.102442](https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102442)
18. Bhat AA, Kaur G, Tandon N, Tandon R, Singh I. Current advancements in synthesis, anticancer activity, and structure-activity relationship (SAR) of coumarin derivatives *Inorganic Chemistry Communications* 2024;167(9):112605 doi: [10.1016/j.inoche.2024.112605](https://doi.org/10.1016/j.inoche.2024.112605)
19. Boyd MR. Status of the NCI preclinical antitumor drug discovery screen. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: Principles and Practice of Oncology, Updates*, vol. 3. Philadelphia: Lippincott; 1989:1-12.



# Морфолого-анатомічне дослідження серпю увінчаного (*Serratula coronata* L.) підземних органів

С. М. Марчишин<sup>1,A,D,F</sup>, М. В. Мельник<sup>1,2,D,E</sup>, О. Л. Демидяк<sup>1,B,D</sup>, Л. В. Слободянюк<sup>1,B,C</sup>,  
І. С. Дахим<sup>1,C,E</sup>, А. В. Москалюк<sup>1,B</sup>

<sup>1</sup>Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України,

<sup>2</sup>Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

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

**Мета роботи** – встановлення морфолого-анатомічних діагностичних ознак підземних органів серпю увінчаного, заготовлених на дослідних ділянках на Тернопільщині у жовтні 2025 року.

**Матеріали і методи.** Матеріал для досліджень – кореневище і корені серпю увінчаного. Морфолого-анатомічну будову сировини вивчали відповідно до вимог монографії Державної Фармакопеї України. Використовували свіжу та висушену сировину. Під час вивчення тимчасових препаратів використано оптичний прилад Delta Optical Genetic Pro, для фіксації результатів застосовано камеру Delta Optical DLT-Cam Pro.

**Результати.** За зовнішніми ознаками кореневище *Serratula coronata* L. коротке, дерев'янисте, товсте, від якого відходять численні тонкі циліндричні додаткові корені, галузисті, шнуроподібні. Колір кореневища ззовні – темно-бурий, додаткових коренів – темно-коричневий, на зламі – білуватий або жовтий, злам волокнистий. Запах слабкий специфічний, смак гіркуватий і в'яжучий. Кореневище має безпучковий тип будови. Покривна тканина – перидерма, до складу якої входить кірка. На поперечному зрізі корку немає; розміщено кілька рядів коричневих клітин, частково розірваних; кора складається з кількох рядів тангентально видовжених клітин паренхіми; кільце навколо ендодерми утворюють секреторні ходи; ендодерма має вузьку каспарієву смугу; вторинна флоема паренхіми – з пучками провідної тканини поблизу камбію; вторинна ксилема складається з паренхіми, з судинами у вузьких радіальних рядах; серцевини і крохмалю немає. У всіх клітинах паренхіми міститься інулін.

**Висновки.** Здійснено морфолого-анатомічне дослідження кореневища та додаткових коренів *Serratula coronata* L., встановлено основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки підземних органів.

**Ключові слова:** серпій увінчаний, морфолого-анатомічна будова, кореневища та додаткові корені.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 138-142**

## Morphological and anatomical study of the underground organs of *Serratula coronata* L.

S. M. Marchyshyn, M. V. Melnyk, O. L. Demydyak, L. V. Slobodianiuk, I. S. Dakhym, A. V. Moskaliuk

**The aim of the work** is to establish morphological and anatomical diagnostic features of the underground organs of the *Serratula coronata*, harvested at the research sites in the Ternopil region in October 2025.

**Materials and methods.** The material for the research was the rhizome and roots of the *S. coronata*. The morphological and anatomical structure of the studied raw material was studied in accordance with the requirements of the monograph of the State Pharmacopoeia of Ukraine. Fresh and dried raw materials were used. When studying temporary preparations, the Delta Optical Genetic Pro optical device was used and a camera Delta Optical DLT-Cam Pro.

**Results.** According to external signs, the rhizome of *Serratula coronata* L. is short, woody and thick, from which numerous, thin, cylindrical branched, cord-like, adventitious roots depart. The color of the rhizome from the outside is dark brown, of the adventitious roots is dark brown, on the fracture it is whitish or yellow, the fracture surface is fibrous. The smell is weak and specific. The taste is bitter and astringent. The rhizome has a bundle-free type of structure. The covering tissue is the periderm, which includes the cortex. The cortex is absent in cross section; several rows of brown cells are located, partially torn; the cortex consists of several rows of tangentially elongated parenchyma cells, and near the inner edge narrow secretory ducts form a ring around the endoderm; the endoderm has a narrow Casparian strip; secondary phloem of the parenchyma with bundles of conductive tissue near the cambium; secondary xylem consists mainly of parenchyma, with vessels arranged in narrow radial rows; pith and starch are absent. Inulin is present in all parenchyma cells.

### ARTICLE INFO

UDC 615.322.014:581.43:582.991  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.355172

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):138-142

**Keywords:** *Serratula coronata* L., morphological and anatomical structure, rhizomes and adventitious roots.

Received: 24.03.2026 // Revised: 12.05.2026 // Accepted: 22.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Conclusions.** A morphological and anatomical study of the rhizome and adventitious roots of *Serratula coronata* L. was carried out and the main macroscopic and microscopic diagnostic features of underground organs were established.

**Keywords:** *Serratula coronata* L., morphological and anatomical structure, rhizomes and adventitious roots.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.** 2026;19(2):138-142

Серпій (*Serratula* L.) – рід рослин родини айстрові (*Asteraceae*), представлений багаторічними трав'янистими рослинами заввишки від 15 см до 90 см. Для роду характерні суцвіття-кошики з двостатевими пурпуровими, темно-рожевими або блакитно-фіолетовими квітками. Листки зверху зеленого кольору, з нижнього боку – білопвисті або сіруваті від павутинистого опушення [1].

На території України зростає, за різними даними, 3–5 видів роду серпю (*Serratula* L.) [1,2]. Найпоширенішими видами є серпій увінчаний (*Serratula coronata* L.) та серпій фарбувальний (*Serratula tinctoria* L.). Серпій вовконолистий (*Serratula lycopifolia* (Vill.) Kern) – рідкісний вид, який занесений до Червоної книги України [2,3].

Серпій увінчаний (*S. coronata* L.) – багаторічна трав'яниста рослина, висота якої може досягати 150 см. Підземна частина представлена масивним горизонтальним кореневищем із великою кількістю шнуроподібних коренів. Стебла прямостоячі, борознисті, зазвичай мають пурпурове забарвлення та розгалужуються у верхній частині. Листкорозміщення чергове: нижні листки черешкові, верхні – майже сидячі. Листова пластинка перисто-розсічена, складається з 3–7 пар зубчастих сегментів із більшою верхівковою часткою. Листки зверху темно-зеленого кольору та зі світлішим нижнім боком, вздовж жилок мають рідке опушення. Плід – продовгу-

вата тонкоборозчаста сім'янка з чубчиком, не опушена, буруватого кольору.

Серпій увінчаний зростає розсіяно у дикому стані на сухих луках, серед чагарників, по узліссях у південних частинах Сумської, Чернігівської, Київської, Житомирської та Рівненської областей. Сьогодні цей вид в Україні культивують (рис. 1) [3,4,5].

В Україні серпій увінчаний використовують лише в традиційній медицині для лікування епілепсії, неврозів, анемії, геморою, ангіни та пропасниці, а також як ранозагоювальний і загальнозміцнювальний засіб [6,7,8].

У зарубіжних джерелах інформації є дані про застосування серпю увінчаного у доказовій медицині як засобу з гемореологічними, імуномодулювальними, адаптогенними й антиоксидантними властивостями. Основна частина досліджень, присвячених цій рослині, зосереджена на вивченні біологічно активних сполук, зокрема екдистероїдів [9].

## Мета роботи

Встановлення морфолого-анатомічних діагностичних ознак підземних органів серпю увінчаного, заготовлених на дослідних ділянках на Тернопільщині у жовтні 2025 року.

## Матеріали і методи дослідження

Матеріал для дослідження – кореневище та корені серпю увінчаного. Морфологічну будову досліджуваної сировини вивчали, використовуючи лупу та бінокулярний мікроскоп. Анатомічну будову вивчали відповідно до вимог монографії Державної Фармакопеї України «2.8.23. Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини».

Використовували свіжу і висушену сировину. Для анатомічного вивчення виготовляли тимчасові мікропрепарати кореневищ і коренів рослини. Під час вивчення тимчасових препаратів використано оптичний прилад Delta Optical Genetic Pro, для фіксації результатів застосовано камеру Delta Optical DLT-Cam Pro [10,11].

## Результати

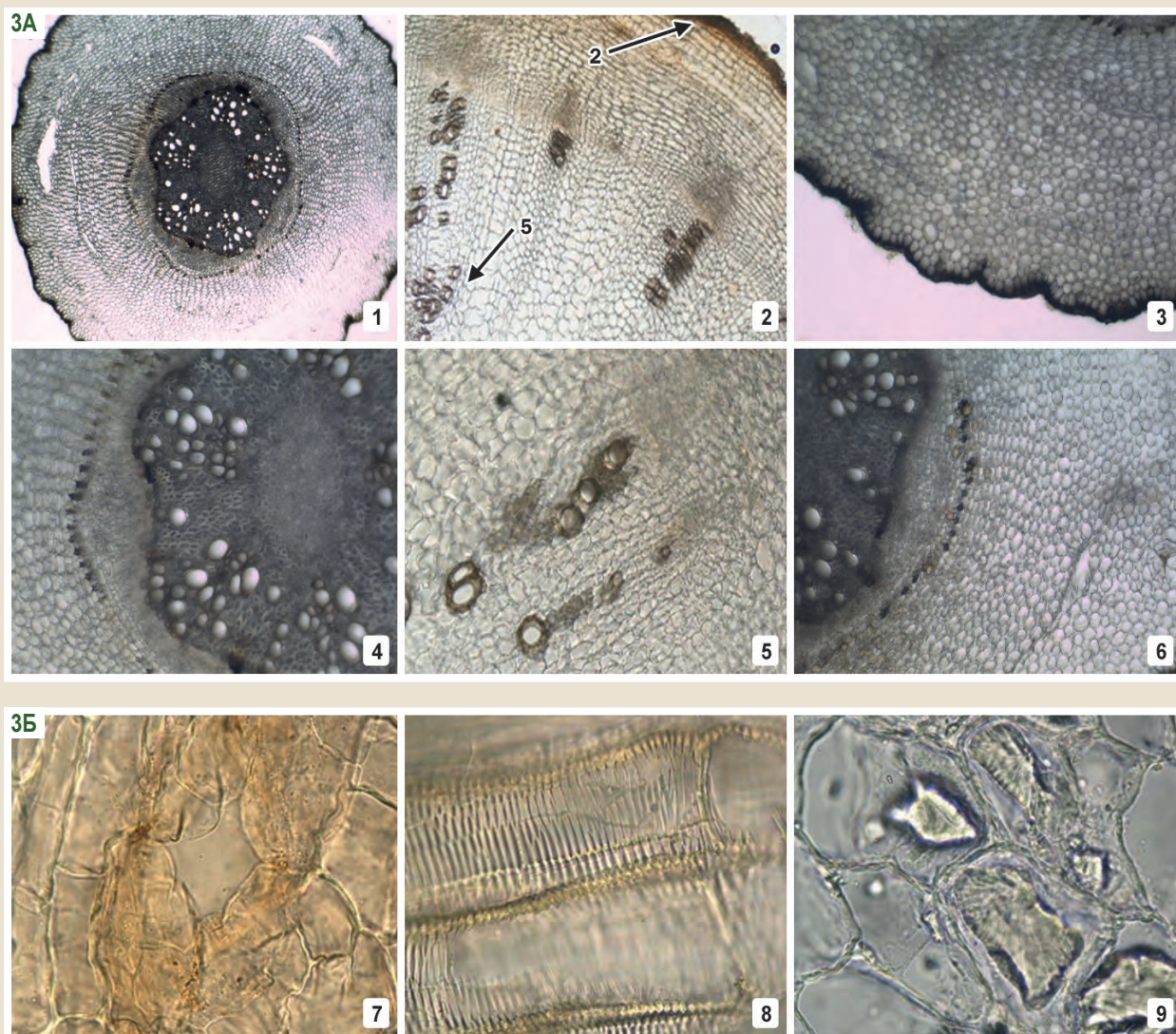
**Макроскопічні ознаки (рис. 2).** За зовнішніми ознаками кореневище *Serratula coronata* L. коротке, товсте, від нього відходять численні тонкі, циліндричні додаткові корені. За будовою це горизонтальне кореневище, від якого утворені вертикальні або косо спрямовані додаткові корені. Кореневище за морфологічною будовою коротке, дерев'янисте, вертикальне або косо, діаметром до 2–4 см, на верхній частині помітні рубці від відмерлих стебел. Додаткові корені галузисті, шнуроподібні, численні,



Рис. 1. Серпій увінчаний (*Serratula coronata* L.), вирощений на дослідних ділянках (Тернопільська область).



**Рис. 2.** Зовнішній вигляд висушеної сировини підземних органів *Serratula coronata* L. **А:** кореневище з коренями; **Б:** додаткові корені.



**Рис. 3.** Фрагмент анатомічної будови кореневища та додаткового кореня *Serratula coronata* L. **А:** поперечний зріз; **Б:** повздовжній зріз; **1:** поперечний зріз кореня; **2:** перидерма, коричневі зовнішні шари, паренхіматозна кора з коричнево-помаранчевим секреторним каналом безпосередньо за межами ендодерми та вторинної флоеми; **3:** ендодерма; **4, 6:** флоемні волокна; **5:** судинна камбіальна зона та вузькі радіальні ряди судин, розділені паренхімою спіральних судин зі вторинною флоемою справа і вторинною ксилемою зліва; **7:** секреторні ходи; **8:** спіральні судини; **9:** інулін у вторинній ксилемній паренхімі.

завдовжки 10–20 см. Колір ззовні кореневища – темно-бурий, додаткових коренів – темно-коричневий, на зламі – білуватий або жовтий, злам волокнистий. Запах слабкий, специфічний (посилюється при розтиранні або зламі сировини), смак гіркуватий і в'язучий.

**Анатомічна будова кореневища та додаткового кореня *Serratula coronata* L.** Кореневище на поперечному зрізі має безпучковий тип будови (рис. 3А, 1). Покривна тканина – перидерма, до складу якої входить кірка (рис. 3, 2). Клітини кірки на поперечному зрізі вдвічі більші від клітин кірки бічного кореня. На поперечному зрізі корку немає; визначено кілька рядів коричневих клітин, частково розірваних; кора складається з декількох рядів тангентально видовжених клітин паренхіми, а біля внутрішнього краю вузькі секреторні ходи (окремі – з коричнево-помаранчевим вмістом) утворюють кільце навколо ендодерми (рис. 3, 2); ендодерма має вузьку каспарієву смугу (рис. 3, 3); вторинна флоема паренхіми – з пучками провідної тканини поблизу камбію (рис. 3, 4, 6); вторинна ксилема складається здебільшого з паренхіми, з судинами, розташованими у вузьких радіальних рядах із невеликою кількістю волокон між судинами; серцевини і крохмалю немає (рис. 3, 4).

На поздовжньому зрізі визначено (рис. 3Б): судини – зі скалярним або сітчастим потовщенням стінок (рис. 3, 5); секреторні ходи (рис. 3, 7); спіральні судини (рис. 3, 8); інулін, який міститься в усіх клітинах паренхіми (рис. 3, 9).

## Обговорення

Здійснили комплексне морфологічне й анатомічне дослідження підземних органів серпю увінчаного, у результаті котрого встановили: підземні органи цього виду представлені коротким, горизонтально розташованим, дерев'янистим кореневищем, від якого відходять галузисті, тонкі, шнуроподібні, численні додаткові корені. Однією з діагностичних макроскопічних ознак кореневища є те, що його колір з поверхні темно-бурий, на зламі, як і додаткових коренів, – білуватий або жовтий. Поверхня коренів – темно-коричневого кольору; на зламі корені волокнисті.

Кореневище має безпучкову будову, покрите перидермою з кіркою. Корку немає. До складу кори входить паренхіма з тангентальних видовжених клітин і вузькі секреторні ходи, окремі з яких мають коричнево-помаранчевий вміст, що може бути однією з діагностичних ознак. Ендодерма має вузьку каспарієву смугу. У препараті не виявлено серцевину та крохмальні зерна. У клітинах вторинної ксилемної паренхіми виявлено інулін, що є діагностичною ознакою підземних органів серпю увінчаного.

## Висновки

1. Здійснено морфолого-анатомічне дослідження кореневища та додаткових коренів *Serratula coronata* L. Встановлено основні морфологічні діагностичні ознаки підземних органів *Serratula coronata* L.: кореневища

горизонтальні, розгалужені, дуже тверді та дерев'янисті; додаткові корені не є продовженням головного кореня, а відростають безпосередньо від кореневища, тонкі, шнуроподібні.

2. Встановлено мікроскопічні діагностичні ознаки підземних органів. Кореневища та додаткові корені мають безпучковий тип будови, виявлено перидерму, флоемні волокна, секреторні ходи, спіральні судини та інулін у вторинній ксилемній паренхімі.

**Перспективи подальших досліджень** передбачають використання встановлених основних морфолого-анатомічних діагностичних ознак підземних органів *Serratula coronata* L. для розроблення проекту методів контролю якості нової лікарської рослинної сировини.

## Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

## Відомості про авторів:

Марчишин С. М., д-р фарм. наук, професор каф. фармакогнозії з медичною ботанікою, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0001-9585-1251

Мельник М. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3586-5501

Демидяк О. Л., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії з медичною ботанікою, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0002-4332-6858

Слободянюк Л. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії з медичною ботанікою, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0002-0400-1305

Дахим І. С., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії з медичною ботанікою, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0003-3806-626X

Москалюк А. В., здобувач вищої освіти, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: 0009-0004-4386-3487

## Information about the authors:

Marchyshyn S. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Melnyk M. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Management, Drug Technology and Pharmacognosy, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Demydyak O. L., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Slobodianiuk L. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Dakhym I. S., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Moskaliuk A. V., Higher Education Student, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.



Світлана Марчишин (Svitlana Marchyshyn)  
marchyshyn@tdmu.edu.ua

---

### References

1. Chopyk VI, Fedoronchuk MM. Flora Ukrainskykh Karpat [Flora of the Ukrainian Carpathians]. Ternopil: Terno-hraf; 2015. Ukrainian.
2. Chetvernia SO, Dzhurenko NI, Palamarchuk OP. [Features of ontogenesis of *Serratula coronata* L. and *Serratula tinctoria* L. in natural habitats]. Visnyk problem biolohii i medytsyny. 2018;(2):99-103. Ukrainian. doi: [10.29254/2077-4214-2018-2-144-99-103](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2018-2-144-99-103)
3. Minarchenko VM. Likarski sudynni roslyny Ukrainy (medychne ta resursne znachennia) [Medicinal vascular plants of Ukraine (medical and resource value)]. Kyiv: Phytosociocentre; 2005. Ukrainian.
4. Ivashchenko IV, Rakhmetov DB. [Biomorphological features of *Serratula coronata* L. (Asteraceae) under conditions of introduction in the botanical garden of ZNAEU]. Modern Phytomorphology. 2016;(10):69-80. Ukrainian.
5. Marchyshyn SM, Atamanchuk TO, Rakhmetov DB, Sira LM. [Morphological and anatomical study of the leaves of *Serratula coronata* L.]. Farmatsevtichnyi chasopys. 2018;(3):17-21. Ukrainian. doi: [10.11603/2312-0967.2018.3.9343](https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.3.9343)
6. Marchyshyn SM, Slobodyaniuk LV, Boyko LA, Korobko DV, Pelincho BM. [Study of the amino acid composition of Crowned serpent]. Medychna ta klinichna khimii. 2024;26(1):112-8. Ukrainian. doi: [10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14604](https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14604)
7. Kobzar AY. Farmakohnoziia v medytsyni [Pharmacognosy in medicine]. Kyiv: Medytsyna; 2007. Ukrainian.
8. Ivashchenko IV, Rakhmetov DB, Fishchenko VV. Serpii uvinchanyi – tsinna likarska kultura [*Serratula coronata* – a valuable medicinal culture]. In: Trofologia – novitnii mizhdystyplinarnyi napriam v Ukraini: materialy I Vseukrainskoi naukovo-osvitno-praktychnoi konferentsii; 2019 Apr 25-26; Zhytomyr. Zhytomyr: ZNAEU; 2019. p. 90. Ukrainian.
9. Kroma A, Pawlaczyk M, Feliczak-Guzik A. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* L. for Psoriatic Skincare. Molecules. 2022;27(11):3471. doi: [10.3390/molecules27113471](https://doi.org/10.3390/molecules27113471)
10. 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.
11. Melnyk M, Koliadzhyn T, Sinichenko A. Morphological and anatomical research of the aerial part of *Atrage alpina* L. Phytotherapy Journal. 2024(1):104-8. doi: [10.32782/2522-9680-2024-1-104](https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-1-104)



# Electrochemical properties of some 1,2,4-triazole derivatives

O. A. Bihdan<sup>ID A,B,D,F</sup>, S. O. Fedotov<sup>ID B,C,D</sup>, A. S. Hotsulia<sup>ID A,C,E</sup>

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

Nitrogen-rich heterocyclic systems, particularly 1,2,4-triazole derivatives, are attractive sources of functionally diverse compounds and promising modifiers for electrochemical sensors. Ionometry, as a branch of potentiometric analysis, focuses on developing highly selective ion-selective electrodes (ISEs) capable of providing direct assessment of ion activity or ionogenic forms of analytes in solution.  $\beta$ -Estradiol is a biologically important steroid hormone; its quantification is relevant for pharmaceutical analysis. Schiff bases as membrane electroactive components represent a viable strategy to enhance sensor selectivity.

**The aim** of the study was to create and study the electrochemical characteristics of an ISE with a plasticized membrane based on 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol with lipophilic ionogenic additives of various nature – tetraoctylammonium bromide (TOABr) and sodium tetraphenylborate ( $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ , NaBPh).

**Materials and methods.** The electroactive Schiff base was synthesized by condensation of 2-hydroxy-5-(phenyldiazenyl)benzaldehyde with 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol in n-butanol (2 h reflux, 12 h standing), followed by purification (DMF recrystallization) and structural confirmation by elemental analysis and  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz). A PVC membrane (0.2 g) was prepared containing 2 wt.% electroactive compound, 0.5 wt.% ionogenic additives (NaBPh or TOABr), polyvinyl chloride (PVC; one-third of the mass), and nitrophenyloctyl ether (two-thirds) as plasticizer, using tetrahydrofuran as the casting solvent. Potentiometric measurements were performed at 20–25 °C (Ezodo PL-700PV) versus an Ag/AgCl reference electrode. Calibration was carried out in the  $10^{-2}$ – $10^{-4}$  M  $\beta$ -estradiol range (1000–10 ppm) with reproducibility control every 2 h.

**Results.** The use of plasticized PVC membranes and a solid-contact configuration was justified to improve potential stability and minimize drift. The presence of azo and azomethine fragments in the modifier implies a dual-pathway electroanalytical process. A mathematical model incorporating diffusion supply and electrode surface coverage by reduction products was proposed; linear stability analysis using the Routh–Hurwitz criterion indicated a broad parameter region where a stable steady state is attainable, enabling formation of an interpretable analytical signal. The detection limit is associated with monotonic instability, whereas potential oscillatory behavior is expected beyond the analytical working range.

**Conclusions.** A plasticized PVC-based ISE incorporating a triazole-derived Schiff base and ionogenic additives (NaBPh / TOABr) was proposed for potentiometric  $\beta$ -estradiol determination; theoretical analysis supports its electroanalytical feasibility and controllable steady-state operation.

**Keywords:** 1,2,4-triazole derivatives, ionometry, ion-selective electrode.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):143-150**

## Електрохімічні властивості деяких похідних 1,2,4-тріазолу

О. А. Бігдан, С. О. Федотов, А. С. Гоцуля

Азотовмісні гетероциклічні системи, зокрема похідні 1,2,4-тріазолу, становлять значний інтерес як джерело функціонально різноманітних сполук і перспективних модифікаторів електрохімічних сенсорів. Іонометрія як складова потенціометричного аналізу орієнтована на створення високоселективних іон-селективних електродів (ІСЕ), здатних забезпечувати пряме оцінювання активності іонів / іоногенних форм аналіту в розчинах.  $\beta$ -Естрадіол – біологічно значущий стероїдний гормон, контроль вмісту якого актуальний для фармацевтичного аналізу; застосування шифових основ як електрод-активних компонентів мембран є перспективним підходом до підвищення селективності сенсорних систем.

**Мета роботи** – створити та дослідити електрохімічні характеристики ІСЕ з пластифікованою мембраною на основі 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолу з ліпофільними іоногенними добавками різної природи – тетраоктиламоній бромідом (TOABr) і натрій тетрафенілборатом ( $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ , NaBPh).

### ARTICLE INFO



UDC 615.31:547.792].074:543.55  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.352175

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):143-150**

**Keywords:** 1,2,4-triazole derivatives, ionometry, ion-selective electrode.

Received: 13.02.2026 // Revised: 14.04.2026 // Accepted: 20.04.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Матеріали і методи.** Електрод-активну шифову основу синтезовано конденсацією 2-гідрокси-5-(фенілдіазеніл)бензальдегіду з 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолом у *n*-бутанолі (нагрівання 2 год, витримування 12 год) з подальшим очищенням (перекристалізація з ДМФ) і підтвердженням будови даними елементного аналізу та <sup>1</sup>H ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 МГц). Мембрану на основі полівінілхлориду (ПВХ; 0,2 г) формували з 2 мас.% електрод-активної сполуки, 0,5 мас.% іоногенних добавок (NaBPh або TOABr), ПВХ (1/3 маси) та нітрофенілоктилового етеру (2/3 маси) з використанням тетрагідрофурану як розчинника. Потенціометричні вимірювання здійснили при 20–25 °С (Ezodo PL-700PV) відносно Ag/AgCl; калібрування виконали в діапазоні 10<sup>-2</sup>–10<sup>-4</sup> М β-естрадіолу (1000–10 м. ч.) з періодичним контролем відтворюваності (кожні 2 год).

**Результати.** Обґрунтовано доцільність пластифікованих ПВХ-мембран і конструкції solid-contact для мінімізації дрейфу потенціалу. Встановлено, що наявність у модифікаторі азо- та азометинового фрагментів зумовлює можливість двоканального перебігу електроаналітичного процесу. Запропоновано математичну модель, що враховує дифузійний підвід аналіту й адсорбційне покриття електрода продуктами відновлення; аналіз лінійної стійкості (критерій Рауса–Гурвіца) підтвердив наявність широкої області параметрів зі стабільним стаціонарним режимом, що сприятливий для формування інтерпретованого аналітичного сигналу. Межа виявлення пов'язана з монотонною нестійкістю, а можливі осциляції очікуються за межами робочого діапазону.

**Висновки.** Запропоновано ІСЕ з пластифікованою ПВХ-мембраною на основі тріазольної шифової основи та іоногенних добавок NaBPh / TOABr для потенціометричного визначення β-естрадіолу. Теоретичні результати підтверджують електроаналітичний потенціал системи та керованість стаціонарного режиму.

**Ключові слова:** похідні 1,2,4-тріазолу, іонетрія, іонселективний електрод.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 143-150**

The need to introduce new highly effective and low-toxic drugs into practice is constantly growing in the modern world. As a result, the creation of new original molecules is an actual task of native pharmaceutical science. Analyzing the literature, it is necessary to note the special role of nitrogen-rich heterocyclic systems, which are widely represented [1,2]. A separate large group of substances belongs to 1,2,4-triazole derivatives, which for many years have attracted scientists of various directions [3,4]. The modern trend remains the possibility of combining 1,2,4-triazole with various pharmacophoric substituents, which can be oriented according to different positions of this heterocycle [5,6].

Ionometry is a modern, constantly developing direction of the potentiometric method of analysis. The main task of the method is the development, study and application of various ion-selective electrodes (ISE), reversible and selective for various cations and anions. Ion-selective electrodes provide direct information about the activity of ions in the solution of the analyzed object and function according to the mechanism of ion transport, and the sufficiently high selectivity of the electrode ensures the permeability of the membrane for one or a limited number of ions due to the introduction of an electrode-active compound [7,8]. Due to the different sizes and shapes of anions, the task of creating selective potentiometric sensors for their determination is very urgent.

A successful solution can be the use of heterocyclic compounds as active components of the membrane, such as 1,2,4-triazoles, 1,3,4-oxadiazoles, metalloporphyrins, porphyrazines, phthalocyanines, etc. [9].

There are many 1,2,4-triazole derivatives that are used as corrosion inhibitors to inhibit the corrosion of steel and copper [7,8]. In some of our publications, we theoretically described the possibility of using 1,2,4-triazole derivatives as electrode active compounds [10,11,12]. Triazoles can be in different tautomeric forms, the influence of such tautomeric forms on electrochemical properties can be significant. The use of 1,2,4-triazole derivatives as an electrode-active component of ISE membranes is a new and promising task [13,14,15].

β-Estradiol is an estrogenic steroid hormone and the main female sex hormone. It is involved in the regulation of the estrous and menstrual female reproductive cycle. Estradiol is responsible for the development of secondary sex characteristics in women, such as breasts, enlarged hips, and the female-associated pattern of fat distribution. It is also important in the development and maintenance of female reproductive tissues such as the breast, uterus, and vagina during puberty, adulthood, and pregnancy. It also has important effects on many other tissues, including bone, fat, skin, liver and brain.

At the moment, some methods of electrochemical determination of steroid hormones have already been developed. Moreover, its chemical composition suggests that it could be determined by electrodes using Schiff bases and their complexes, which are very popular in electroanalysis.

## Aim

Thus, the aim of our work was to create and study the electrochemical characteristics of an ion-selective electrode with a plasticized membrane based on 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol with lipophilic ionogenic additives of various nature – tetraoctylammonium bromide (TOABr) and sodium tetraphenylborate (NaB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>, NaBPh).

## Materials and methods

5-(3-Fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol was synthesized by us earlier and its physicochemical properties were described earlier [14], other reagents, including 2-hydroxy-5-(phenyldiazenyl)benzaldehyde, β-estradiol (E8875-250MG) were purchased from Sigma Aldrich (Germany) and used without further purification. <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded at Enamine (Kyiv, Ukraine) on a Varian Mercury 400 spectrometer (400 MHz) in DMSO-*d*<sub>6</sub>, Research drug – “Guna-beta-estradiol” drops or. 30 ml each in a bottle cap. (Odesa, Ukraine), was purchased in a retail pharmacy chain.

A mixture of 0.57 g (0.0025 mol) of 2-hydroxy-5-(phenyldiazenyl)benzaldehyde with 0.53 g (0.0025 mol) of

1

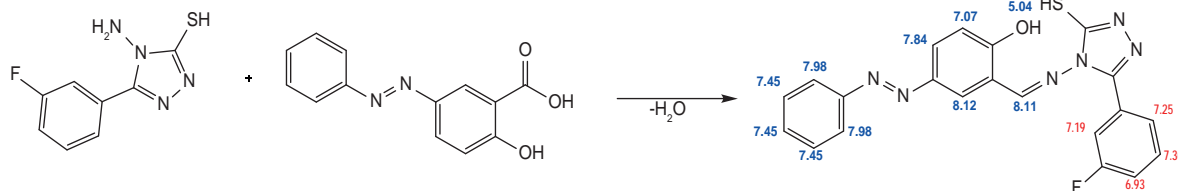


Fig. 1. Obtaining the Schiff base by the condensation method.

5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol in 20 ml of butan-1-ol is refluxed for 2 hours. The reaction mixture was kept at room temperature for 12 hours (Fig. 1). The precipitate was filtered off and washed with diethyl ether, obtaining 0.43 g of Schiff's base (MP > 250 °C, crystallized from DMF). Found: C: 60.56 %, H: 3.43 %; N: 20.04 %; C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>6</sub>OS. Calculated: C: 60.42 %, H: 3.38 %; N: 20.13 %.

## Results

Liquid membranes are a solution of an electrode-active component in an organic solvent immiscible with water, held by a porous partition. Unlike solid membranes, where active centers are fixed in space by the forces of chemical bonding, in liquid membranes organophilic active components are mobile in the membrane phase.

Close to liquid are plasticized membranes obtained as a result of the introduction of active components into an inert, for example, polyvinyl chloride matrix. Its elasticity and mechanical strength is caused by the presence of plasticizers – esters of phthalic, phosphoric, sebacic and other acids. The use of a plasticized membrane allows you to completely abandon the internal liquid reference electrode. In this case, the platinum, silver or copper wire is covered with a film of polyvinyl chloride containing AK membranes and a plasticizer. The liquid active phase can also be fixed on the graphite surface. ISEs obtained in this way, in the design of which there is no liquid system of the reference electrode, are called solid-contact. An important role in forming the potential of such electrodes is played by the material of the current collector.

The use of a fundamentally new electrode modifier requires a priori mechanistic theoretical analysis of the electroanalytical system. This will help us solve problems such as: instability in the interaction of the electrode with the analyte and its role in the electroanalytical system; the possibility of electrochemical instabilities in similar systems with electrooxidation of various organic molecules, including electrochemical polymerization.

Theoretical research makes it possible to solve the mentioned problems in the development of an ion-selective electrode. The research includes the development and analysis of a mathematical model capable of adequately describing the electroanalytical system. Since the compound contains two electrochemical centers – a diazo group and a “Schiff bond”, the electroanalytical process can occur according

to two parallel mechanisms using an azo group (Fig. 2), in which “Estr” means an oxidized fragment of β-estradiol or through an azomethine fragment (Fig. 3).

In both cases, the original Schiff base is restored at the electrochemical stage. So, considering the above statements, in order to theoretically describe the behavior of the system, we introduce three variables: *c* – concentration of estradiol in the pre-surface layer;  $\theta_4$  is the degree of anode coverage by the reduction product in Fig. 2;  $\theta_5$  is the degree of anode coverage by the reduction product in Fig. 3.

To simplify the simulation, let's assume that the reactor is intensively stirred, so the convection flow can be neglected. We also assume that the background electrolyte is in excess, so the migration flow can be neglected. The thickness of the pre-surface layer is assumed to be constant, equal to  $\delta$ , and the analyte and alkali concentration profile is linear. It can be shown that the behavior of the system will be described by the following tripartite system:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left( \frac{\Delta}{\delta} (c_0 - c) - r_{41} - r_{51} \right) \\ \frac{d\theta_4}{dt} = \frac{1}{G_4} (r_{41} - r_{42}) \\ \frac{d\theta_5}{dt} = \frac{1}{G_5} (r_{51} - r_{52}) \end{array} \right.$$

where  $c_0$  is the molar concentration of estradiol;  $\Delta$  is the diffusion coefficient;  $\theta_4$  and  $\theta_5$  are maximum concentrations of reduction products; *r* are the rates of the corresponding chemical and electrochemical stages associated with Fig. 1–3, which can be described as follows:

$$r_{41} = k_{41}c(1 - \theta_4 - \theta_5)$$

$$r_{51} = k_{51}c(1 - \theta_4 - \theta_5)$$

$$r_{42} = k_{42}\theta_4 \exp\left(\frac{2F\varphi_0}{RT}\right)$$

$$r_{52} = k_{52}\theta_5 \exp\left(\frac{2F\varphi_0}{RT}\right),$$

where *k* – are the corresponding rate constants; *F* – is the Faraday number;  $\varphi_0$  – is the slope of the potential associated with the potential of zero charge; *R* – is the universal gas constant; *T* – is absolute temperature.

Although compared to the simple case, the behavior in this electroanalytical process will be efficient. To investigate the

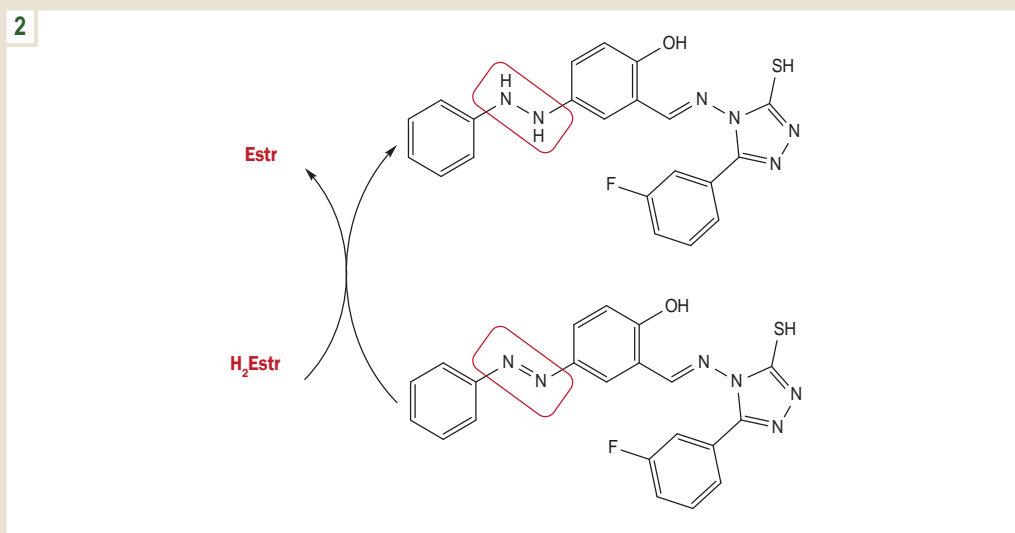


Fig. 2. Scheme of the electroanalytical process involving the azo group.

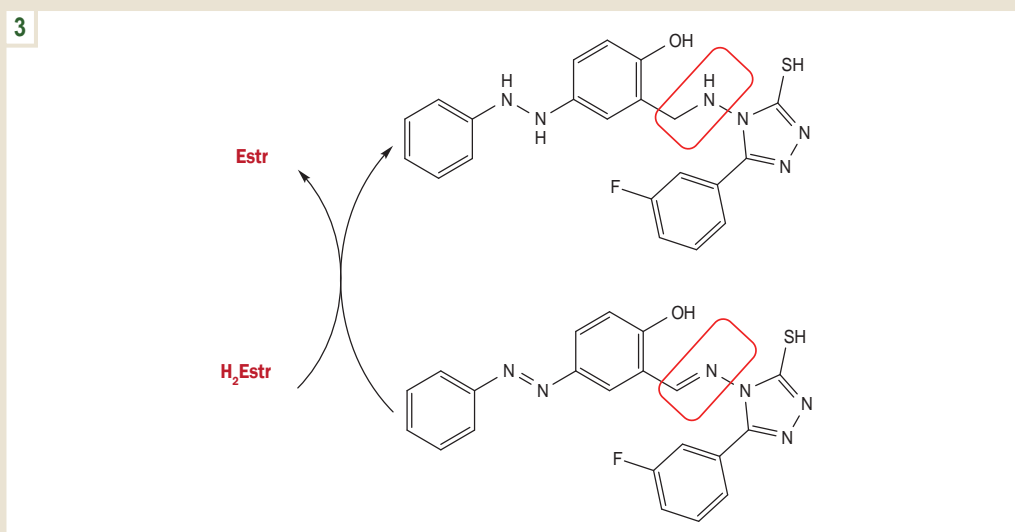


Fig. 3. Scheme of the electroanalytical process involving the azomethine fragment.

behavior of the electroanalytical process for the determination of estradiol using the new Schiff basis, we analyze a set of equations using the theory of linear stability. The members of the Jacobi functional matrix in the steady state will be described as follows:

$$a_{11} = \frac{2}{\delta} \left( -\frac{\Delta}{\delta} - k_{41}(1 - \theta_4 - \theta_5) - k_{51}c(1 - \theta_4 - \theta_5) \right)$$

$$a_{12} = \frac{2}{\delta} (k_{41}c + k_{51}c)$$

$$a_{13} = \frac{2}{\delta} (k_{41}c + k_{51}c)$$

$$a_{21} = \frac{1}{G_4} (k_{41}(1 - \theta_4 - \theta_5))$$

Considering the expressions, it can be seen that the main diagonal of the Jacobi matrix contains two elements that can be positive and, as a result, describe a positive callback. This

distinguishes this system from similar ones for which only one positive element can be possible.

The stationary stability criterion for dynamic systems is the so-called Raut–Hurwitz criterion. Opening the straight brackets of the determinant, applying to it the inequality resulting from the criterion, and considering that  $V + W = \Pi$ , we can obtain the condition for the stability of the stationary mode:

$$-\kappa_1(\Omega W + VK + \Omega K) - \mathcal{E}(\Omega W + \Omega K - WK) - \Lambda(VK + \Omega K - \Omega V) < 0,$$

which is guaranteed to be satisfied if the parameters  $j$  and  $v$  are positive (which is realized in most cases). Therefore, the steady state is stable in a relatively large topological range of parameters, which from an electroanalytical point of view will mean that the system is electroanalytically efficient, since the relationship between the electrochemical parameter (in this case, the current) and the concentration of estradiol is linear,

and the analytical signal is easy to interpret. The electroanalytical process in this case is mostly controlled kinetically, being diffusion controlled with the help of relatively large working electrodes.

The detection limit is determined by the realization of the monotonic instability, the corresponding saddle-node bifurcation, which separates stable steady states and unstable states. The condition of its appearance:

$$-\kappa_1(\Omega W + VK + \Omega K) - \varepsilon(\Omega W + \Omega K - WK) - \Lambda(VK + \Omega K - \Omega V) = 0.$$

The behavior of this system will be much less dynamic if the Schiff base is introduced into the conducting polymer as part of the macromolecule. Thus, both reduced forms will be present in the reduced macromolecules, which will reduce the number of variables to two.

The theoretical analysis of the electrochemical determination of estradiol using the new Schiff basis allows us to conclude that:

- it can be an excellent electrode modifier for estradiol quantification. The system is electroanalytically efficient because steady-state stability is easy to obtain and maintain;
- the electroanalytical process is mostly reaction-driven, being diffusion-driven if the working electrode is relatively large;
- possible oscillatory behavior in this system caused by the effect of two electrochemical steps on the electric double layer;
- the implementation of oscillatory behavior occurs beyond the limit of detection.

**Development and preparation of the electrode.** The total weight of the plasticized membrane was 0.2 g, the content of the electrode-active component (2-((3-(3-fluorophenyl)-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)-4-(phenyldiazenyl)phenol) accounted for 2 wt.%, ionic additives – 0.5 wt.%, 1/3 of the total weight was the amount of polyvinyl chloride (PVC) and 2/3 – nitrophenyloctyl ether in the role plasticizer.

The membrane component was dissolved in tetrahydrofuran with constant stirring and left until the solvent completely evaporated. As an ionogenic additive – an ion exchanger, the anionic additive sodium tetraphenylborate, as well as a cationic additive – ionic liquid tetraoctylammonium bromide, were introduced into the membrane composition. The obtained membrane was fixed with the help of a special tip and a union nut to the cylindrical Teflon body of the electrode (Fig. 4). The working surface of the membrane was approximately 0.5 cm<sup>2</sup>. Potentiometric measurements were carried out at a temperature of 20–25 °C on an Ezodo PL-700PV laboratory device, relative to a silver chloride electrode. The potentiometric cell had the following form: Ag/AgCl/KCl sat./ads.pH/membrane/vnutr.p-n/AgCl/Ag. The internal solution was a mixture of 10<sup>-5</sup> mol/l for analyte and 1 mol/l for KCl.

An aliquot (5–50 ml) of a diluted (10<sup>-3</sup>–10<sup>-4</sup> mol/l) analyte solution was placed in a potentiometric cell equipped with an ion-selective electrode, a reference electrode, and

a magnetic stirrer, and with constant stirring, 10<sup>-3</sup> (or 10<sup>-2</sup>) mol/l titrant solution (2-((3-(3-fluorophenyl)-5-mercapto-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)-4-(phenyldiazenyl)phenol) (in portions of 0.2–0.5 ml continuously with an adjustable speed) with simultaneous automatic recording of the EMF of the cell using a computer. The schematic diagram of the experimental setup for research is shown in Fig. 5. The pH of the solutions was measured with a glass pH electrode.

Sequence of work with an experimental ion-selective electrode:

1. With the help of serial dilution from the ready-made reference solution with a concentration of 0.1 M or 1000 ppm, we prepare three reference solutions. Reference solutions of β-estradiol should have concentrations of 10<sup>-2</sup> M, 10<sup>-3</sup> M and 10<sup>-4</sup> M or 1000, 100 and 10 ppm.
2. Pour the most diluted solution (10<sup>-4</sup> M or 10 ppm) into a beaker with a volume of 150 ml, place it on a magnetic stirrer and start stirring at a constant speed. Having made sure that the EZODO PL-700PV laboratory device is working, we lower the tip of the electrode into the solution. When the readings are set, we record the voltage value displayed on the digital display. We repeat similar manipulations with other concentrations of β-estradiol solution.
3. We construct a graph of the dependence of the voltage values displayed on the digital display (on the linear axis) on the concentration (on the logarithmic axis). It is necessary to check the calibration curve every 2 hours.

## Discussion

The discussion of the obtained results indicates that the proposed membrane system constitutes a methodologically sound platform for the potentiometric determination of β-estradiol. The concept of this approach is based on combining the “liquid-like” mobility of the electroactive component with the mechanical stability of a plasticized PVC matrix, thereby ensuring both measurement reproducibility and technological suitability of the sensing element.

A decisive factor governing the functional properties of the membrane is the plasticizer, which generates an organophilic microenvironment of sufficient polarity. This microenvironment lowers the membrane resistance, accelerates the establishment of interfacial equilibria, and consequently improves the stability of potential generation. In contrast to solid membranes with immobilized active sites, plasticized PVC membranes maintain mobility of the electroactive species within the membrane phase, enhancing mass transport and promoting a stable distribution of the analyte at the membrane/solution interface. Moreover, this architecture provides a rationale for transitioning to solid-contact configurations without an internal liquid electrode, where the long-term potential stability may be substantially influenced by the current collector material.

The mechanistic features of the system are dictated by the nature of the modifier, i. e., the Schiff base, which contains two electrochemical centers (an azo group and an azomethine fragment). As a result, the interaction with β-estradiol may proceed via two parallel pathways, leading to the formation of

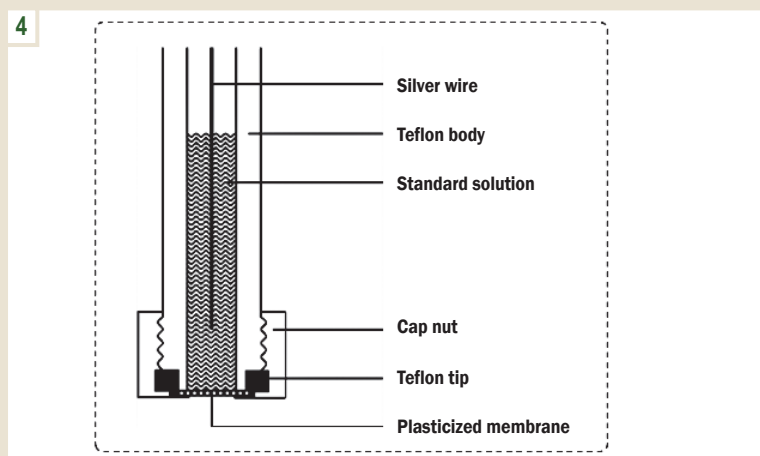


Fig. 4. Scheme of the structure of the liquid electrode.

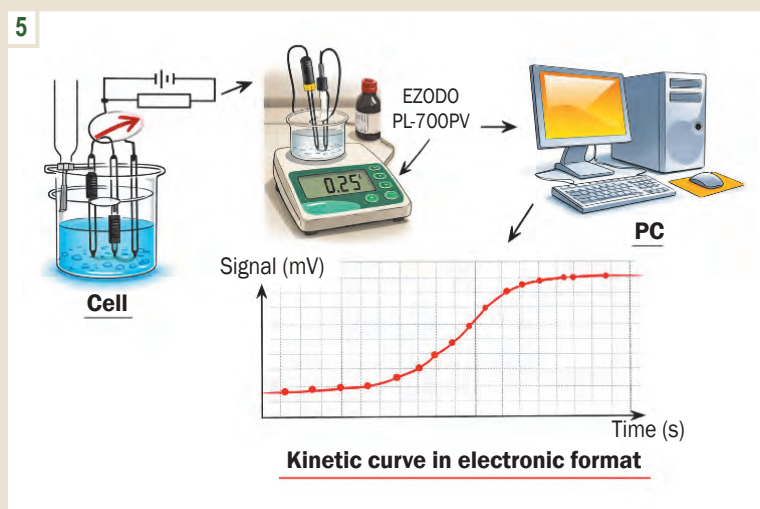


Fig. 5. Hardware design scheme.

two reduced surface forms. Competition between these forms for active electrode sites complicates the process dynamics; therefore, an adequate description requires accounting for both the analyte concentration in the near-surface layer and the surface coverage by the reduction products associated with each pathway.

The theoretical analysis was conducted under assumptions typical for potentiometric measurements: intensive mixing, an excess of supporting electrolyte, a constant diffusion-layer thickness, and a linear concentration profile. These conditions allow the contributions of diffusive analyte supply and the kinetics of surface stages to be separated and, accordingly, enable a formal stability analysis of the stationary regime. The Jacobian-matrix analysis suggests that the system may exhibit nonlinear effects due to the possible occurrence of two positive diagonal elements, which corresponds to positive feedback. In principle, this provides prerequisites for oscillatory regimes associated with the influence of two electrochemical stages on the electrical double layer.

Nevertheless, application of the Routh–Hurwitz criterion demonstrates that the stationary regime remains stable over

a broad range of parameters. Therefore, under operating conditions one may expect a linear relationship between the analytical signal (EMF / current) and the  $\beta$ -estradiol concentration, along with an unambiguous interpretation of the results. In general, the process is predominantly reaction-kinetically controlled; however, with increased working surface area or under certain hydrodynamic conditions it may approach diffusion control. Within the framework of the model, the detection limit is associated with a monotonic saddle-node instability separating stable and unstable states, which reflects a loss of uniqueness or stability of the response as critical concentrations or parameters are approached. At the same time, any electrode-stage-induced oscillations are predicted to occur beyond the detection limit and therefore should not interfere with routine measurements within the working concentration range.

The experimental findings are consistent with the theoretical concept through a rational selection of membrane composition. A PVC / plasticizer ratio of 1:2, 2 wt.% of the electroactive component, and 0.5 wt.% of ionic additives correspond to conventional approaches for preparing plasti-

cized PVC membranes. The use of sodium tetraphenylborate as an anion exchanger and tetraoctylammonium bromide as a cationic/ionic-liquid additive is expected to reduce membrane resistance, stabilize interfacial potentials, improve reproducibility, and decrease drift by optimizing charge balance and transport within the membrane phase.

An important procedural requirement is pH control and periodic verification of the calibration characteristic every 2 hours, which is consistent with possible slow membrane-conditioning processes and with the pH sensitivity of estradiol interactions with the membrane microenvironment. Further optimization may include standardization of preconditioning protocols and fine-tuning of membrane additives. A promising direction is also the immobilization of the Schiff base within a conducting polymer, which could reduce the number of dynamic variables and diminish the propensity of the system to instabilities.

Overall, the combined theoretical assessment and practical design choices for electrode fabrication and calibration support the use of the Schiff base as an effective modifier for the quantitative determination of  $\beta$ -estradiol, providing a stable stationary regime and the absence of practically significant oscillatory phenomena within the relevant concentration range.

## Conclusions

1. Investigating the electrochemical properties of 1,2,4-triazole derivatives, the expediency of creating an ion-selective electrode based on 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol for determining the concentration of  $\beta$ -estradiol.

2. For the first time, a study of the mechanism of electrochemical transformations based on an ion-selective electrode with 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol was carried out, and the appearance of an analytical signal was revealed, which determines the possibility of determining the concentration of  $\beta$ -estradiol.

## Funding

The study was performed without financial support.

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about authors:

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

ORCID ID: [0000-0003-1611-7978](https://orcid.org/0000-0003-1611-7978)

Fedotov S. O., Senior Lecturer of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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

Hotsulia A. S., DSc, 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)

## Відомості про авторів:

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

Федотов С. О., старший викладач каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

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



Andrii Hotsulia (Андрій Гоцуля)  
[andrey.goculya@gmail.com](mailto:andrey.goculya@gmail.com)

## References

1. Chaudhary PM, Tupe SG, Jorwekar SU, Sant DG, Deshpande SR, Maybhat SP, et al. Synthesis and antifungal potential of 1,2,3-triazole and 1,2,4-triazole thiol substituted strobilurin derivatives. *Indian J Chem B*. 2015;54B(7):908-17.
2. Parchenko VV. [Synthesis, transformation, physic-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 2026 Mar 1]. Ukrainian. Available from: <https://nrat.ukrinte.ua/searchdoc/0514U000208/>
3. Kaldrikyan MA, Melik-Oganjanyan RG, Aresnyan FH. Synthesis and antitumor activity of 5-methylbenzofuryl-substituted 1,2,4-triazoles and triazolone-5-thiones. *Pharm Chem J*. 2013;47(4):191-4. doi: [10.1007/s11094-013-0924-3](https://doi.org/10.1007/s11094-013-0924-3)
4. Shaterian HR, Moradi S. Preparation of 7-amino-1,3-dioxo-1,2,3,5-tetrahydropyrazolo[1,2-a][1,2,4]triazole using magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles coated by (3-aminopropyl)-triethoxysilane as catalyst. *Res Chem Intermed*. 2015;41:223-9. doi: [10.1007/s11164-013-1184-2](https://doi.org/10.1007/s11164-013-1184-2)
5. Iradyan MA, Iradyan NS, Paronikyan RV, Stepanyan GM. Synthesis and biological activity of substituted 6-alkyl(6H)-3-phenyl-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazines. *Pharm Chem J*. 2010;44(8):413-7. doi: [10.1007/s11094-010-0479-5](https://doi.org/10.1007/s11094-010-0479-5)
6. Pruhlo YS, Bilal IM, Mykhailiuk YO, Shcherbina RO, Parchenko VV, Kaplaushenko AH, et al. [The acute toxicity study of 2-(4-R-5-R1-1,2,4-triazole-3-thio)acetic acid salts and 4-R-5-R1-1,2,4-triazole-3-thione derivatives]. In: *Liky – liudyni. Suchasni problemy stvorennia, vyvchennia ta aprobatsii likarskykh zasobiv. Proceedings of the 28th All-Ukrainian Scientific and Practical Conference with International Participation*. Kharkiv: Publishing House of the NphU; 2011. p. 341-4. Ukrainian.
7. Merimi I, Aslam R, Hammouti B, Szumiata T, Lgaz H, Chung IM. Adsorption and inhibition mechanism of (Z)-4-((4-methoxybenzylidene)amino)-5-methyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione on carbon steel corrosion in HCl: Experimental and theoretical insights. *J Mol Struct*. 2021;1231:129901. doi: [10.1016/j.molstruc.2021.129901](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129901)
8. Mohanty A, Kumar S, Tiwari SK. Assessment of N-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)octanamide as hydrochloric acid corrosion inhibitor for mild steel. *Mater Today Commun*. 2021;27:102439. doi: [10.1016/j.mtcomm.2021.102439](https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102439)
9. Zhang L, Yang D, Wang L. Electrochemical synthesis of a novel thiazole-based copolymer and its use for the simultaneous determination of dopamine, uric acid and nitrite. *Electrochim Acta*. 2013;111:9-17. doi: [10.1016/j.electacta.2013.07.216](https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.07.216)
10. Tkach VV, Storoshchuk NM, de Oliveira SC, Luganska OV, Parchenko VV, Bigdan OA, et al. The theoretical determination of chlorogenic acid on a novel triazolic derivative-modified electrode. In: *Current Problems of Chemistry. Proceedings of the 2nd All-Ukrainian Conference with International Participation*. Zhytomyr, Ukraine: Publishing house of the Ivan Franko ZhDU; 2018. p. 58-59.
11. Tkach VV, Kushnir MV, Ivanushko YG, de Oliveira SC, Luganska OV, Parchenko VV, et al. The theoretical description of sartan electrochemical determination, assisted by new triazoles, reinforced by a disulfonic organic acid. *Appl J Envir Eng Sci*. 2018;4(4):422-428. doi: [10.48422/IMIST.PRSM/ajejes-v4i4.12196](https://doi.org/10.48422/IMIST.PRSM/ajejes-v4i4.12196)
12. Tkach VV, Kushnir MV, Storoshchuk NM, de Oliveira SC, Luganska OV, Parchenko VV, et al. The theoretical description of cathodic pyrrole electrodeposition, assisted by a dichromate of a novel triazolic derivative. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*. 2018;2(2):1-5. doi: [10.48419/IMIST.PRSM/rhazes-v2.16423](https://doi.org/10.48419/IMIST.PRSM/rhazes-v2.16423)

13. Bihdan OA. [Synthesis, chemical modification and biological properties of 3-,4-,5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thiones] [dissertation on the Internet]. Zaporizhzhia: Zaporizhzhia State Medical University; 2023 [cited 2026 Mar 1]. Ukrainian. Available from: <https://nrat.ukrintei.ua/en/searchdoc/0523U100030/>
14. Gotsulya A, Fedotov S, Zynych O, Trofimova T, Brytanova T. Synthesis and properties of S-alkyl 4-(4-chlorophenyl)-5-(pyrrole-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Ank Univ Eczaci Fak Derg.* 2023;47(3):1020-32. doi: [10.33483/jfpau.1280492](https://doi.org/10.33483/jfpau.1280492)
15. Hotsulia AS, Brytanova TS, Fedotov SO, Ubogov SH, Pidlisnyi OV, Yaroshenko IV. [The pharmacological potential of 1-alkyl derivatives of 4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazole]. *Ukrainian Journal of Military Medicine.* 2024;5(3):85-4. Ukrainian. doi: [10.46847/ujmm.2024.3\(5\)-085](https://doi.org/10.46847/ujmm.2024.3(5)-085)



# Визначення вмісту фтору методом прямої потенціометрії у гетерогенній косметичній системі у формі зубної пасти

I. В. Ресницький<sup>1,B,D</sup>, В. І. Бессарабов<sup>1,2,A,E,F</sup>, О. В. Іщенко<sup>1,A,B,C</sup>, О. М. Роїк<sup>1,C,E</sup>, Т. О. Макаrchuk<sup>1,C,D</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна; <sup>2</sup>Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, м. Київ

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** – експериментальне обґрунтування можливості кількісного визначення іонів фтору в модельній гетерогенній косметичній системі у формі зубної пасти методом прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода.

**Матеріали і методи.** Дослідження здійснили методом прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода. Для стабілізації іонної сили середовища та мінімізації впливу компонентів матриці застосували буферний розчин TISAB. Підготовку проб здійснили шляхом розчинення наважки зубної пасти у дистильованій воді з додаванням надалі рівного об'єму буферного розчину. Калібрування електродної системи виконали з застосуванням стандартних розчинів натрію фториду. Об'єкт дослідження – гетерогенна косметична система у формі зубної пасти, що містила абразивні компоненти, зволожувачі, поверхнево-активні речовини, полімерний загусник і натрію фторид як джерело іонів фтору.

**Результати.** Результати потенціометричних вимірювань показали, що модельний зразок зубної пасти характеризується стабільною гетерогенною структурою та рівномірним розподілом фторид-іонів у системі. Середній вміст фтору у досліджуваному зразку становив  $985,0 \pm 5,2$  ppm, що відповідає нормативним вимогам до фторвмісних зубних паст для щоденного використання. Незначна варіабельність отриманих значень свідчить про хорошу відтворюваність методу та мінімальний вплив багатокomпонентної матриці зубної пасти на результати аналізу.

**Висновки.** Підтверджено можливість застосування методу прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода та буферного розчину TISAB для кількісного визначення фтору в багатокomпонентних гетерогенних косметичних системах без попереднього руйнування матриці продукту. Запропонований підхід може бути використаний для аналітичного контролю якості фторвмісних зубних паст на етапах розробки, виробництва та стандартизації засобів для гігієни порожнини рота.

**Ключові слова:** гетерогенні системи, зубна паста, фтор, потенціометрія, фторселективний електрод, стандартизація, відтворюваність, косметична продукція, аналітичні методи.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 151-156**

## Quantitative determination of fluoride by direct potentiometry in a heterogeneous cosmetic system in the form of toothpaste

I. V. Resnytskyi, V. I. Bessarabov, O. V. Ishchenko, O. M. Roik, T. O. Makarchuk

**Aim of the study** – experimental substantiation of the possibility of quantitative determination of fluoride ions in a model heterogeneous cosmetic system in the form of toothpaste using direct potentiometry with a fluoride-selective electrode.

**Materials and methods.** The study was carried out using direct potentiometry with a fluoride-selective electrode. A TISAB buffer solution was applied to stabilize the ionic strength of the medium and to minimize the influence of matrix components. Sample preparation included dissolving a weighed portion of toothpaste in distilled water followed by the addition of an equal volume of buffer solution. Calibration of the electrode system was performed using standard sodium fluoride solutions. The object of the study was a heterogeneous cosmetic system in the form of toothpaste containing abrasive components, moisturizers, surfactants, a polymer thickener and sodium fluoride as a source of fluoride ions.

**Results.** The obtained results demonstrated that the model toothpaste sample is characterized by a stable heterogeneous structure and a uniform distribution of fluoride ions. According to the potentiometric measurements, the average fluoride content in the studied sample was  $985.0 \pm 5.2$  ppm, which complies with regulatory requirements for fluoride-containing toothpastes intended for daily use. The low variability of the obtained values indicates good reproducibility of the method and a minimal influence of the multicomponent toothpaste matrix on the analytical results.

### ARTICLE INFO



UDC 615.454.1:665.583.4].074:546.16.062:543.554  
DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.353632](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.353632)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):151-156**

**Keywords:** heterogeneous systems, toothpaste, fluoride, potentiometry, fluoride-selective electrode, standardization, reproducibility, cosmetic products, analytical methods.

Received: 10.03.2026 // Revised: 08.05.2026 // Accepted: 18.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Conclusions.** The results confirm the applicability of the direct potentiometric method using a fluoride-selective electrode in combination with a TISAB buffer solution for quantitative determination of fluoride in multicomponent heterogeneous cosmetic systems without prior destruction of the product matrix. The proposed approach can be used for analytical quality control of fluoride-containing toothpastes during product development, manufacturing and standardization of oral hygiene cosmetic products.

**Keywords:** heterogeneous systems, toothpaste, fluoride, potentiometry, fluoride-selective electrode, standardization, reproducibility, cosmetic products, analytical methods.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):151-156**

Зубні пасти належать до косметичної продукції для догляду за ротовою порожниною. Це гетерогенні системи, що часто містять фторвмісні сполуки, ефективність і безпечність яких визначаються точним дотриманням регламентованого кількісного вмісту фтору. Водночас багатокомпонентна природа зубних паст, що включає абразивні речовини, полімерні загусники та поверхнево-активні речовини (ПАР), ускладнює коректне кількісне визначення іонів фтору через можливі матричні ефекти, адсорбцію або часткове зв'язування фторид-іонів. Це зумовлює необхідність застосування селективних, надійних і відтворюваних аналітичних методів контролю [1].

У цьому контексті актуальною є розробка модельної гетерогенної косметичної системи у формі зубної пасти та експериментальне обґрунтування можливості використання методу прямої потенціометрії з фторселективним електродом, що забезпечує достовірне кількісне визначення вмісту фтору й, відповідно, належний рівень якості та безпечності фторвмісних косметичних засобів.

Гетерогенні косметичні системи, зокрема зубні пасти, є складними багатокомпонентними композиціями, у яких поєднання абразивів, зволожувачів, ПАР і полімерних загусників визначає споживчі властивості продукту та поведінку біологічно активних компонентів у матриці.

Окремий напрям досліджень присвячений фторвмісним сполукам у складі зубних паст, оскільки фториди є одним із найпоширеніших засобів профілактики карієсу завдяки впливу на процеси демінералізації / ремінералізації емалі. Автори наукових праць акцентують, що терапевтична ефективність фтору прямо залежить від його концентрації у готовому продукті, а безпечність – від недопущення відхилень від рекомендованих меж, тому контроль фактичного вмісту фтору є обов'язковою частиною оцінювання якості [2].

Встановлено також, що визначення фторид-іонів у зубних пастах ускладнене матричними ефектами: абразивні компоненти (наприклад, на основі діоксиду кремнію) можуть адсорбувати іони фтору, а полімерні загусники та ПАР можуть змінювати іонну силу та впливати на активність іонів у розчині. Саме ці фактори часто стають джерелом систематичних похибок і заниження результатів, коли не здійснено коректної пробопідготовки. Значна частина публікацій присвячена порівнянню аналітичних підходів до контролю фтору в пастах. Серед них найчастіше вивчають титриметричні, фотометричні й електрохімічні методи. Наголошують, що титриметрія потребує чіткого визначення точки еквівалентності, що проблематично для каламутних або пастоподібних ма-

триць, а фотометричні методи можуть втрачати точність від впливу допоміжних речовин, які змінюють оптичні властивості системи [3].

У науковій літературі доволі широко описано використання потенціометрії з іон-селективними електродами як одного з найзручніших інструментів для аналізу фтору в складних середовищах [4]. У публікаціях підкреслюють, що метод прямої потенціометрії дає змогу визначати активність фторид-іонів без необхідності багатостадійного руйнування матриці, а селективність фторселективного електрода робить підхід придатним для багатокомпонентних косметичних систем [4,5].

Показано, що TISAB (Total Ionic Strength Adjustment Buffer – загальний буфер регулювання іонної сили) стабілізує іонну силу, підтримує оптимальний рН і зменшує вплив багатовалентних катіонів шляхом запобігання утворенню комплексів із фторид-іонами, що в сукупності підвищує відтворюваність і точність визначення.

Окремо в публікаціях висвітлено питання щодо калібрування фторселективного електрода та перевірки лінійності залежності потенціалу від логарифма концентрації фтору в заданому діапазоні. Показано, що лінійність калібрувальної кривої та наближеність нахилу до теоретично очікуваних значень є ключовими ознаками коректної роботи електродної системи та правильності умов вимірювання. За даними фахової літератури, пробопідготовку визначено як критичний етап аналізу, оскільки саме на цьому етапі мінімізуються матричні впливи та забезпечується перехід фторид-іонів у форму, доступну для селективного вимірювання [4,6]. Описано підходи, що включають розчинення наважки пасти у воді, додавання рівного об'єму TISAB, витримання до стабілізації потенціалу та виконання повторних вимірювань для статистичної надійності результату [3].

Згідно з результатами сучасних досліджень, потенціометричне визначення фтору може забезпечити хорошу відтворюваність у разі належної стандартизації умов: кондиціонування електродів, контролю температури, стабілізації іонної сили та рН та коректного калібрування. Такі підходи визначають як практично придатні для лабораторного контролю якості фторвмісних багатокомпонентних продуктів.

Отже, незважаючи на наявність різних методик контролю фтору, найбільш обґрунтованим для гетерогенних косметичних систем є електрохімічний підхід із фторселективним електродом у поєднанні з використанням TISAB, оскільки він дає змогу зменшити вплив матриці, отримати відтворювані дані та застосувати метод для оцінювання відповідності продукту заданим концен-

Таблиця 1. Рецептúra розробленого модельного зразка фторвмісної зубної пасти

Хімічна назва інгредієнта за INCI	Номер CAS	Концентрація інгредієнта в рецептурі, %
Aqua	7732-18-5	До 100
Silica	7631-86-9	15,0
Sorbitol	50-70-4	14,5
Glycerin	56-81-5	11,5
Erythritol	7541-59-5	10,0
Cocamidopropyl Betaine	97862-59-4	1,5
Cellulose Gum	9004-32-4	1,5
Methylparaben	99-76-3	1,5
Propylparaben	94-13-3	0,5
Polyvinyl Alcohol	9002-89-5	0,5
Sodium Fluoride	7681-49-4	0,221
Mentha Piperita oil	8006-90-4	0,01

траційним межам. Саме тому наукові праці спрямовані на уточнення умов пробопідготовки та вимірювань для підвищення достовірності контролю фтору в зубних пастах.

## Мета роботи

Експериментальне обґрунтування можливості кількісного визначення іонів фтору в модельній гетерогенній косметичній системі у формі зубної пасти методом прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода.

## Матеріали і методи дослідження

У межах дослідження розроблено модельну гетерогенну косметичну систему у формі зубної пасти із вмістом фтору. До складу пасти входили натрію фторид, абразивний компонент на основі гідратованого діоксиду кремнію, зволожувальні речовини, ПАР і полімерний загусник. Пасту готували поетапно, з формуванням водної фази та введенням надалі компонентів до отримання однорідної структури [2].

Після введення розчину натрію фториду абразивний компонент додавали поступово, постійно перемішуючи. На завершальному етапі вводили поверхнево-активні та допоміжні речовини, коригували значення рН до рівня, прийняттого для засобів гігієни порожнини рота. Отриманий зразок характеризувався стабільною консистенцією без ознак фазового розшарування.

Для кількісного визначення іонів фтору застосували метод прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода F502 (SANXIN, Китай) та електрода порівняння 6211-M (SANXIN, Китай). Підготовку проб здійснили шляхом розчинення наважки пасти у дистильованій воді, надалі додано буферний розчин TISAB. У такий спосіб досягнуто стабілізації іонної сили середовища та сталих умов вимірювання.

Калібрування електродної системи здійснили з використанням стандартних розчинів натрію фториду з відомими концентраціями, на основі яких будували калібрувальну залежність між потенціалом електрода та логарифмом концентрації іонів фтору.

## Результати

У результаті експериментальних досліджень отримано зразок модельної зубної пасти, що характеризується однорідною гетерогенною структурою та стабільною консистенцією. Склад зразка сформовано відповідно до вимог Міжнародної номенклатури косметичних інгредієнтів (INCI), що забезпечує коректну ідентифікацію компонентів та відповідає сучасним підходам до стандартизації косметичних засобів (табл. 1).

Після завершення технологічного процесу не виявлено ознак фазового розшарування, седиментації або агрегації твердої фази, що свідчить про правильний добір компонентів та оптимальну послідовність їх введення. Отриманий зразок придатний для подальших аналітичних досліджень. Зовнішній вигляд і текстурні характеристики зразка залишалися стабільними протягом усього періоду виконання вимірювань. Відсутність змін консистенції та видимих структурних дефектів є необхідною передумовою для забезпечення відтворюваності аналітичних результатів, оскільки нестабільність гетерогенної системи може призводити до нерівномірного розподілу активних компонентів [7].

Зразок зубної пасти характеризувався рівномірним розподілом абразивного компонента в дисперсійному середовищі. Це мінімізувало ризик локальної концентрації фторид-іонів і забезпечило репрезентативність відбору проб для потенціометричного аналізу. Паста не містила агломератів і великих частинок, що позитивно вплинуло на точність визначення кількісного вмісту фтору. Для кількісного визначення іонів фтору було проведено калібрування фторселективного електрода з використанням

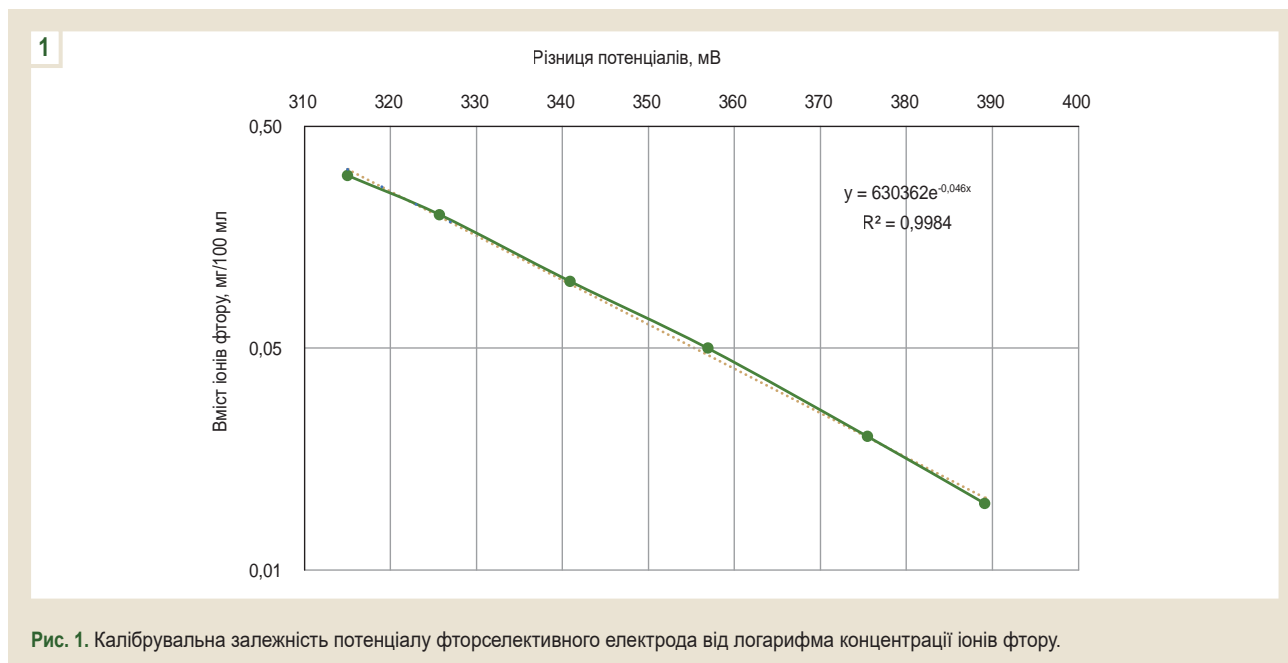


Рис. 1. Калібрувальна залежність потенціалу фторселективного електрода від логарифма концентрації іонів фтору.

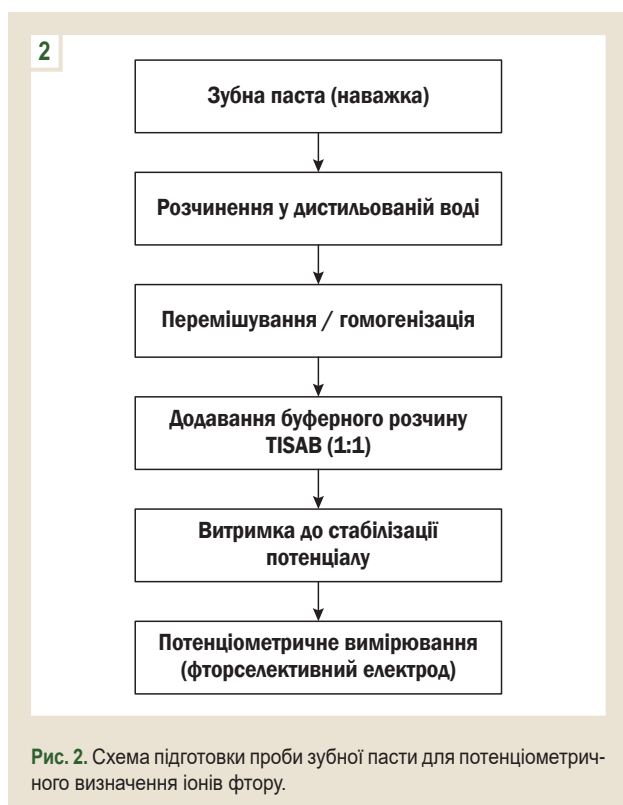


Рис. 2. Схема підготовки проби зубної пасту для потенціометричного визначення іонів фтору.

Таблиця 2. Результати кількісного визначення фтору у зубній пасті

№ вимірювання	Вміст фтору, ppm
1	987,0
2	981,0
3	987,0
Середнє значення	985,0
SD	5,2

стандартних розчинів натрію фториду. У результаті отримано лінійну залежність між потенціалом електрода та логарифмом концентрації іонів фтору в досліджуваному діапазоні концентрацій, що підтверджується калібрувальною кривою, наведеною на рис. 1.

Лінійний характер калібрувальної залежності свідчить про коректність роботи електродної системи та відповідність умов вимірювання вимогам методу прямої потенціометрії. Отримана залежність дала змогу використовувати побудовану калібрувальну криву для наступного кількісного визначення фтору у зразках зубної пасту [8].

Кут нахилу калібрувальної прямої наближався до теоретичного значення, характерного для фторселективних електродів, що свідчить про стабільність потенціометричної системи. Оскільки не визначено суттєвих відхилень від лінійності у всьому досліджуваному діапазоні концентрацій, підтверджено відсутність значного впливу матричних компонентів на аналітичний сигнал.

Підготовку проб зубної пасту до потенціометричного аналізу здійснювали з використанням буферного розчину TISAB, що забезпечує стабілізацію іонної сили середовища та підтримання оптимального значення рН. Послідовність операцій підготовки проби для визначення іонів фтору наведено на рис. 2.

Застосування буферного розчину TISAB дало змогу зменшити вплив багатокомпонентної матриці зубної пасту на результати вимірювань. Буфер запобігав утворенню комплексів іонів фтору з багатовалентними катіонами та забезпечував сталі умови для потенціометричного визначення [9]. Після додавання TISAB у підготовлених пробах спостерігали швидке встановлення стабільного потенціалу фторселективного електрода. Це свідчить про ефективний перехід фторид-іонів у розчин і про мінімальний вплив допоміжних компонентів пасту на аналітичний сигнал.

За результатами серії потенціометричних вимірювань визначено кількісний вміст фтору у розробленій зубній пасті. Дані окремих вимірювань та результати їх статистичного опрацювання наведено в *таблиці 2*. Встановлені значення характеризуються незначною варіабельністю, що свідчить про хорошу відтворюваність методу.

Середній експериментально визначений вміст фтору у зразку, що дослідили, становив 985,0 ppm. Розраховане стандартне відхилення не перевищувало  $\pm 5,2$  ppm, що свідчить про однорідність розподілу активного компонента у гетерогенній системі та стабільність аналітичних умов. Визначений вміст фтору відповідає вимогам Технічного регламенту на косметичну продукцію, що гармонізований із Регламентом (ЄС) № 1223/2009 Європейського Парламенту та Ради про косметичні продукти. Відповідно до цього документа, гранично допустима сумарна концентрація фтору в зубних пастах не повинна перевищувати 0,15 % (1500 ppm) у перерахунку на елементарний фтор [10]. Отже, встановлені дані свідчать про відповідність дослідженого зразка встановленим нормативним вимогам щодо безпечності та якості косметичної продукції. Результати дослідження підтверджують також придатність застосованого потенціометричного методу для контролю вмісту фтору у складних гетерогенних косметичних системах.

Незначна варіабельність експериментальних даних щодо вмісту фтору та низьке значення стандартного відхилення свідчать про однорідний розподіл фторид-іонів у гетерогенній системі зубної пасти та стабільність аналітичних умов вимірювання. Це підтверджує коректність технології приготування зразка, а також свідчить про те, що компоненти матриці пасти не чинять істотного впливу на результати потенціометричного визначення [5].

## Обговорення

Порівняно з іншими аналітичними методами, які застосовують для визначення фтору в зубних пастах, пряма потенціометрія з використанням фторселективного електрода та буферного розчину TISAB забезпечує достовірні та відтворювані результати без необхідності попереднього руйнування багатокомпонентної матриці. Це робить метод придатним для контролю якості гетерогенних косметичних систем [5,9].

Порівняння експериментально визначеного вмісту фтору з теоретично обчисленим значенням, що передбачене рецептурою продукту, показало їхню високу узгодженість. На підставі цих даних дійшли висновку, що у процесі приготування зубної пасти не відбуваються втрати фтору або його хімічні перетворення. Встановлене значення вмісту фтору відповідає діапазону концентрацій ( $\approx 1000$ – $1500$  ppm), що наведений у фаховій літературі та характерний для фторвмісних зубних паст для щоденного використання, відповідає рекомендованим нормативним значенням, які встановлені для косметичної продукції цієї категорії [11,12]. Визначений рівень достатній для досягнення карієс-профілактичної дії без перевищення допустимих меж, що підтверджує безпечність і функці-

ональну доцільність розробленої композиції. Результати дослідження підтверджують потенційну придатність визначення вмісту фтору у модельній гетерогенній косметичній системі у формі зубної пасти методом прямої потенціометрії з експериментальним контролем ефективності та безпечності профілактичних гігієнічних процедур [11].

Багатокомпонентна матриця зубної пасти може суттєво впливати на коректність кількісного визначення іонів фтору. Абразивні компоненти на основі діоксиду кремнію можуть почасти адсорбувати фторид-іони на своїй поверхні, а отже призводити до заниження результатів аналізу, коли не здійснено відповідну пробопідготовку. Полімерні загусники та ПАР можуть змінювати іонну силу середовища або впливати на активність іонів фтору в розчині. Застосування буферного розчину TISAB дає змогу мінімізувати ці ефекти шляхом стабілізації іонної сили та запобігання утворенню комплексів фторид-іонів із багатовалентними катіонами. Це забезпечує переведення фтору у форму, доступну для селективного потенціометричного визначення, та зменшує вплив матричних компонентів на аналітичний сигнал.

Результати дослідження підтверджують аналітичну доцільність застосування методу прямої потенціометрії для визначення фтору в гетерогенних косметичних системах. Метод дає змогу здійснювати кількісне визначення фторид-іонів без попереднього руйнування складної матриці зубної пасти, що знижує ризик втрат аналіту та появи додаткових джерел похибок [10,11].

Завдяки селективності фторселективного електрода та стандартизованим умовам вимірювання потенціометричний підхід можна використовувати для аналітичного контролю фторвмісних косметичних продуктів у лабораторних умовах. Згідно з результатами дослідження, цей метод можна застосовувати для оцінювання відповідності фторвмісних зубних паст заданим концентраційним межах і для порівняльного аналізу зразків із різним складом під час аналітичних досліджень [11].

## Висновки

1. Розроблено модельну гетерогенну косметичну систему у формі зубної пасти із вмістом фтору, що характеризується однорідною структурою та стабільною консистенцією без ознак фазового розшарування. Запропонована технологія приготування забезпечує рівномірний розподіл фторид-іонів у дисперсійному середовищі та відтворюваність властивостей готового продукту.

2. Для кількісного визначення іонів фтору в зубній пасті застосовано метод прямої потенціометрії з використанням фторселективного електрода. Показано, що обраний метод є придатним для аналізу багатокомпонентних гетерогенних косметичних систем, якщо здійснено належну підготовку проб.

3. Використання буферного розчину TISAB під час пробопідготовки дало змогу стабілізувати іонну силу середовища, підтримати сталий рівень pH і зменшити вплив компонентів матриці зубної пасти на результати

вимірювань, що сприяє відтворюваності потенціометричних визначень.

4. У результаті експериментальних досліджень встановлено, що середній вміст фтору у розробленій зубній пасті становить  $985,0 \pm 5,2$  ppm. Це відповідає вимогам Технічного регламенту на косметичну продукцію, що гармонізований із Регламентом (ЄС) № 1223/2009 Європейського Парламенту та Ради, та підтверджує безпечність і якість дослідженого зразка.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати дослідження підтверджують можливість застосування методу прямої потенціометрії з фторселективним електродом для контролю кількісного вмісту фтору у гетерогенних косметичних системах у формі зубних паст і можуть бути використані під час розробки й аналітичного контролю аналогічних косметичних продуктів.

#### Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

#### Відомості про авторів:

Ресницький І. В., канд. техн. наук, асистент каф. промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-4376-0811](https://orcid.org/0000-0003-4376-0811)

Бессарабов В. І., д-р техн. наук, професор каф. промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну; Інститут фізико-органічної хімії і вуглекімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, м. Київ.

ORCID ID: [0000-0003-0637-1729](https://orcid.org/0000-0003-0637-1729)

Іщенко О. В., д-р техн. наук, професор каф. промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9510-6005](https://orcid.org/0000-0002-9510-6005)

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

ORCID ID: [0000-0002-5988-6577](https://orcid.org/0000-0002-5988-6577)

Макарчук Т. О., здобувач вищої освіти, Київський національний університет технологій та дизайну, Україна.

ORCID ID: [0009-0007-8326-8991](https://orcid.org/0009-0007-8326-8991)

#### Information about the authors:

Resnytskyi I. V., PhD, Assistant at the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine.

Bessarabov V. I., PhD, DSc, Professor of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design; L. M. Litvinenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry NAS of Ukraine, Kyiv.

Ishchenko O. V., PhD, DSc, Associate Professor, Professor at the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine.

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

Makarchuk T. O., Higher Education Student, Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine.



Олена Роїк (Olena Roik)  
[roik.om@knuud.edu.ua](mailto:roik.om@knuud.edu.ua)








#### References

1. Sebastian ST, Siddanna S. Total and Free Fluoride Concentration in Various Brands of Toothpaste Marketed in India. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(10):ZC09-12. doi: [10.7860/JCDR/2015/13382.6578](https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/13382.6578)

- Buzalaf M, Pessan JP, Honório HM, Ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:97-114. doi: [10.1159/000325151](https://doi.org/10.1159/000325151)
- Borjigin S, Ashimura Y, Yoshioka T, Mizoguchi T. Determination of fluoride using ion-selective electrodes in the presence of aluminum. *Anal Sci.* 2009;25(12):1437-43. doi: [10.2116/analsci.25.1437](https://doi.org/10.2116/analsci.25.1437)
- Mendes A, Nascimento MS, Picoloto RS, Flores E, Mello PA. A sample preparation method for fluoride detection by potentiometry with ion-selective electrode in medicinal plants. *J Fluor Chem.* 2020;231:109459. doi: [10.1016/j.jfluchem.2020.109459](https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2020.109459)
- Mukendi MD, Mketo N. Water-based microwave-assisted digestion method for electrochemical and chromatographic determination of total fluoride ions in toothpaste samples. *Appl Sci (Basel).* 2023;13(24):13315. doi: [10.3390/app132413315](https://doi.org/10.3390/app132413315)
- Miya KS, Jha VK. Determination of fluoride in various samples using a fluoride selective electrode. *J Anal Sci Methods Instrum.* 2020;10(04):97-103. doi: [10.4236/jasmi.2020.104007](https://doi.org/10.4236/jasmi.2020.104007)
- ten Cate JM. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J.* 2013;214(4):161-7. doi: [10.1038/sj.bdj.2013.162](https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.162)
- Mazur IP, Mazur PV. [Effectiveness and safety of oral care products]. *Oral Gen Health.* 2021;2(3):17-21. Ukrainian. doi: [10.22141/ogh.2.3.2021.240724](https://doi.org/10.22141/ogh.2.3.2021.240724)
- EU Regulation. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European parliament and of the council. *Off J Eur Union.* 2009;342:59-209.
- Ruiz-Gonzalez A. Ion-selective electrodes in the food industry: Development trends in the potentiometric determination of ionic pollutants. *Electrochem.* 2024;5(2):178-212. doi: [10.3390/electrochem5020012](https://doi.org/10.3390/electrochem5020012)
- Crouch S, Skoog D, Holler F. *Principles of Instrumental Analysis.* 7th ed. Mason, OH: CENGAGE Learning Custom Publishing; 2017.
- Vellappally S, Naik S, Al Kheraif AA, Alayadi H, Alageel O, Alsarani MM, et al. Fluoride Concentrations in Different Brands of Toothpaste Marketed in Saudi Arabia. *Int J Dent Hyg.* 2025;23(2):353-61. doi: [10.1111/ihd.12855](https://doi.org/10.1111/ihd.12855)



# Evaluation of the anti-inflammatory activity of a blackberry thick fruit extract using *in vivo* model and molecular docking

A. O. Marchenko<sup>1</sup><sup>A,D</sup>, M. A. Komisarenko<sup>1</sup><sup>B,E</sup>, O. Yu. Maslov<sup>1</sup><sup>A,C</sup>, I. O. Lebedinets<sup>1</sup><sup>B,C</sup>, T. K. Yudkevych<sup>1</sup><sup>E</sup>,  
S. V. Kolisnyk<sup>1</sup><sup>E,F</sup>, A. O. Koval<sup>1</sup><sup>B,C</sup>

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

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

In recent years, increasing attention has been paid to natural compounds as potential agents due to their broad spectrum of biological activities. Plant-derived antioxidants with anti-inflammatory properties are of particular interest, as they may suppress pathological pathways. Therefore, the search for novel natural compounds capable of attenuating inflammation remains a promising area of biomedical research.

**The aim of work** was to evaluate the anti-inflammatory activity of a blackberry thick fruit extract using an *in vivo* model and molecular docking.

**Materials and methods.** The object of study was a blackberry thick fruit extract. Molecular docking was performed using AutoDockTools 1.5.6. Anti-inflammatory effect was assessed by the model of carrageenan-induced paw edema in rats.

**Results.** Theoretical assessment of the anti-inflammatory activity of the blackberry fruit extract showed that blackberry anthocyanins as cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-(3'-malonyl glycoside) and cyanidin-3-xyloside blocked highly selective three out of four pro-inflammatory targets as cyclooxygenase-2 (COX-2), phospholipase A2 and 5-lipoxygenase (5-LOX), whereas, cyanidin-3,3'-diglucoside and cyanidin-3-rutinoside highly selective blocked two out of four targets as phospholipase A2 and 5-LOX. There was not found any high selective inhibitor among anthocyanins of nuclear factor κB (NF-κB), whereas cyanidin-3-xyloside showed a moderate selectivity. Experimental studies have shown the blackberry fruit thick extract at a dose of 60.0 mg/kg and 30.0 mg/kg significantly reduces edema after 1, 2, 3 and 4 hours compared to the control group.

**Conclusions.** Theoretical and experimental research of anti-inflammatory properties of blackberry fruit extract using molecular docking analysis and *in vivo* model of carrageenan-induced paw edema in rats, respectively, has been conducted. Theoretical results have shown blackberry anthocyanins possessed ability to inhibit all crucial pro-inflammatory targets as COX-2, phospholipase A2, 5-LOX and Nf-κB. Experimental results have demonstrated that blackberry thick fruit extract at doses of 60.0 mg/kg and 30.0 mg/kg possessed the ability to significantly inhibit inflammation at all stages of the carrageenan-induced paw edema model.

**Keywords:** blackberry, fruit, inflammation, *in silico*, extract, carrageenan model.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):157-163**

## Оцінювання протизапальної активності густого екстракту плодів ожини з використанням *in vivo* моделі та молекулярного докінгу

A. O. Марченко, М. А. Комісаренко, О. Ю. Маслов, І. О. Лебединець, Т. К. Юдкевич, С. В. Колісник, А. О. Коваль

Останніми роками все більшу увагу приділяють природним сполукам як потенційним агентам завдяки їх широкому спектру біологічної активності. Особливий інтерес становлять антиоксиданти рослинного походження з протизапальними властивостями, оскільки вони можуть пригнічувати патологічні процеси. Тому пошук нових природних сполук, що можуть послаблювати запалення, залишається перспективною галуззю біомедичних досліджень.

**Мета роботи** – оцінити протизапальну активність екстракту густих плодів ожини за допомогою моделі *in vivo* та молекулярного докінгу.

**Матеріали і методи.** Об'єкт дослідження – густий екстракт плодів ожини. Молекулярний докінг виконали за допомогою AutoDockTools 1.5.6. Протизапальний ефект оцінювали на моделі набряку лапи, індукованого карагенаном, у щурів.

**Результати.** Теоретичне оцінювання протизапальної активності екстракту плодів ожини дало змогу встановити, що антоціани ожини, як-от ціанідин-3-глюкозид, ціанідин-3-(3'-малонілглюкозид) і ціанідин-3-ксилозид, високоселективно блокували три з чотирьох прозапальних мішеней (циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), фосфоліпаза А2 та 5-ліпооксигени (5-ЛОГ)), а ціанідин-3,3'-диглюкозид і ціанідин-3-рутинозид високоселективно блокували дві з чотирьох мішеней (фосфоліпаза А2 та 5-ЛОГ). Не виявлено жодного високоселективного інгібітора серед антоціанів ядерного фактора κB (NF-κB), а ціанідин-3-глюкозид характеризувався помірною

### ARTICLE INFO



UDC 615.322:582.711.712]:615.276.015.11:004.94  
DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.351404](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.351404)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):157-163**

**Keywords:** blackberry, fruit, inflammation, *in silico*, extract, carrageenan model.

Received: 03.02.2026 // Revised: 17.04.2026 // Accepted: 22.04.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

селективністю. У результаті експериментальних досліджень встановлено, що густий екстракт плодів ожини в дозі 60,0 мг/кг та 30,0 мг/кг значно зменшує набряк через 1, 2, 3 та 4 години порівняно з контрольною групою.

**Висновки.** Здійснили теоретичне й експериментальне дослідження протизапальних властивостей екстракту плодів ожини з використанням молекулярного докінг-аналізу та *in vivo* моделі набряку лапи, індукованого карагенаном, у щурів відповідно. Теоретичні результати показали, що антоціани ожини мають здатність пригнічувати всі ключові прозапальні мішені, такі як ЦОГ-2, фосфоліпаза А2, 5-ЛОГ та Nf-κB. Експериментальні результати підтвердили, що екстракт густих плодів ожини в дозах 60,0 мг/кг та 30,0 мг/кг може значно пригнічувати запалення на всіх стадіях моделі набряку лапи, індукованого карагенаном.

**Ключові слова:** ожина, плоди, запалення, *in silico*, екстракт, карагенанова модель.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 157-163**

Inflammation is one of the main reactions of the body to foreign invasion such as microorganisms, chemical substances and etc. The crucial role of the immune system during inflammation indicates foreign compounds, eventually activate several pro-inflammation pathways, which lead to the significant increasing of cytokines, activate immune cells as lymphocytes and macrophages [1]. The inflammation process is controlled with the variety of pathways as mitogen-activated protein kinase, NF-κB and prostaglandins synthesis. The main cascade of inflammation consists of several steps: above all, foreign substances attract neutrophils and macrophages, which activate prostaglandins synthesis using COX 1 and 2 enzymes, cytokines as interleukin-6, interleukin-1β, and tumor necrosis factor α [2].

Treatment of inflammation consists of the application of steroidal anti-inflammatory drugs and non-steroidal drugs. Both groups of anti-inflammatory drugs possessed the following side effects: steroidal drugs induce inhibition of the immune cells, downregulation of the production of calcium in bones, whereas non-steroidal caused an ulcer disease, and bronchospasm [3]. Therefore, the search and creation new anti-inflammation drugs based on natural products is the task number for medicine and pharmacy.

Today, medical plants that are a rich source of anthocyanins have a high level of attention from the scientific community [4]. Above all, it relates with fact that natural compounds have a potent antioxidant effect and moreover, the side effects rarely happened after the application of natural compounds than after synthetic drugs.

The perspective source of anthocyanins was chosen blackberry fruits. Blackberry is a shrub of the *Rosacea* family. The distribution area is Europe, North America, Asia [5]. The chemical composition of blackberry fruits is represented by anthocyanins, organic acids and hydroxycinnamic acids [6].

There is a lot of research about the investigation of the pharmacological activity of blackberry fruit. It is known that anthocyanins from blackberry fruit, possess: anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, anti-hyperglycemic, immune-modulation, and anticancer effects [6,7,8]. Besides, in folk medicine blackberry are traditionally applied to treat fever, infections, diabetes, and liver diseases [9]. In our view, the anthocyanins are perspective for the development of new antimicrobial, and antioxidant pharmaceuticals.

There is a lot of scientific research about determination anti-inflammatory activity of blackberry fresh fruit extracts [10,11]. However, there is no date about assessing anti-inflammatory activity on carrageenan model and conducting

molecular docking blackberry anthocyanins against pro-inflammatory targets.

### Aim

The aim of the work was to evaluate anti-inflammatory activity of a blackberry thick fruit extract using *in vivo* model and molecular docking.

### Materials and methods

Blackberry fruits (*Rubus plicatus* Weihe & Nees) were collected in 2021 in July, near the village of Ternova in the Kharkiv region (50°19'31"N, 36°66'93"E).

Exactly 100.0 g of blackberry fruit was pressed and extracted with 96 % ethanol using a threefold solvent-to-material ratio. After filtration, the resulting filtrate was concentrated under reduced pressure using a vacuum evaporator at 50–60 °C to obtain an extract with a final extract-to-raw material mass ratio of 1:0.35.

Thirty male outbred white strain rats, each weighing about 180–220 grams, were used in the experiment. The rats used in the experiment were obtained from the National University of Pharmacy (NUPh) vivarium. The rats were kept in pairs in Macrolon boxes throughout the experiment. Food and water were available *ad libitum*, and were replenished daily. Bedding was changed every three days. The animals were kept in an environment that was monitored and maintained to have a temperature of 22 ± 2 °C, relative humidity of 60 ± 5 %, and a light / dark cycle of 12 hours.

All study procedures were aligned in accordance with the Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine “On approval of the Procedure for conducting experiments on animals by scientific institutions” (01 March 2012, No. 2012) and the Ukrainian Law “On Protection of Animals from Cruel Treatment” (21 February 2006, No. 344). The study protocol was sanctioned by the Local Ethics Committee (Protocol No. 17, March 5, 2025).

The anti-exudative activity of the extract was studied on 25 white male outbred rats, aged 180–220 g. The model of acute inflammation was created by subplantar injection of 0.1 mL of 1 % carrageenan (Fluka, Switzerland) into the right hind paw of the rats. Edema was measured at 1, 2, 3, and 4 hours post-injection [12].

All animals were divided into 6 groups. The first group was control pathology (animals of the positive control groups were not treated.), the second group – sodium diclofenac at a dose 8 mg/kg, the third group – “Quertin” (Public Joint-Stock

**Table 1.** Molecular docking of the anthocyanins and anti-inflammatory drug standard diclofenac sodium and quercetin with the COX-2

Ligand	Binding energy, $\Delta G_{bind}^a$ (kcal/mol)	Ki <sup>b</sup> , mmol	Binding site	Level of selectivity
Cyanidin-3-xyloside	-13.15	0.0000023042	A: ALA199, ALA202, TYR385, TRP387, HIS388, LEU390, LEU391	High selectivity
Cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside)	-11.89	0.00000192	A: ALA199, LEU391, TRP387, TYR385, GLU203	High selectivity
Cyanidin-3-glycoside	-10.85	0.0000112	A: TYR385, HIS386, TRP387, HIS388, TRP387, LEU390, LEU391, VAL447	High selectivity
Diclofenac sodium	-5.76	0.05977	A: ALA199, ALA202, GLN203, TRP387, LEU390, LEU390, TYR385, HIS388	Low selectivity
Quercetin	-4.59	0.42855	A: CYS36, ASN39, CYS41, PRO154, ALA156	Low selectivity
Cyanidin-3-rutinoside	-1.32	107.87	A: CYS36, ASN39, CYS41, PRO154, ALA156	Low selectivity
Cyanidin-3,3'-diglucoside	78.0 <sup>#</sup>	–	A: CYS36, ASN39, CYS41, PRO154, ALA156	Inactive

$\Delta G_{bind}$ : free-binding energy; Ki: 50 % enzyme inhibition concentration.

Company “Scientific and Production Center “Borshchagov Chemical and Pharmaceutical Plant”) at a dose of 50 mg/kg in terms of quercetin 3.5 mg/kg, the fourth group – blackberry extract at a dose 60 mg/kg in terms of polyphenolic compounds, the fifth group – blackberry extract at a dose 30 mg/kg in terms of polyphenolic compounds, and the six group – blackberry extract at a dose 10 mg/kg in terms of polyphenolic compounds.

Molecular docking studies were performed using AutoDockTools version 1.5.6 [13]. The structures of the investigated ligands were obtained from the PubChem database [14]. The three-dimensional structures of cyclooxygenase-2 (COX-2; PDB ID: 1DDX), phospholipase A2 (PLA2; PDB ID: 3HSW), 5-lipoxygenase (5-LOX; PDB ID: 2Q7M), and NF- $\kappa$ B (PDB ID: 1SVC) were retrieved from the Protein Data Bank (PDB) [15]. The active sites of the target proteins were identified using CASTp 3.0 [16]. The resolutions of the selected protein structures were 3.00 Å for 1DDX, 2.50 Å for 3HSW, 4.25 Å for 2Q7M, and 2.60 Å for 1SVC.

To obtain statistical results, the Statistica 10 program was used, and the results were analyzed using Mann–Whitney test. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

## Results

At the first stage of your research a molecular docking study was provided to understand the anti-inflammatory potential of blackberry fruit extract. There are a variety of pro-inflammatory pathways responsible to activate cytokines as TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 and others. In our view, the most important key pro-inflammatory enzymes belong COX-2, 5-LOG, phospholipase A2, and NF- $\kappa$ B. In order to compare potential of blackberry fruit extract it was taken gold standards' such as sodium diclofenac. Since this drug is indicated in official protocols of treatment of acute and chronic diseases as well as among anti-inflammatory drugs based on natural compounds quercetin was chosen as on the market present drug “Quertin” applied in the treatment of cardiological, neurological and renal diseases.

In our previous research [7] it was estimated an anthocyanins composition of blackberry fruit extract by high

performance liquid chromatography. According to this study the following anthocyanins were identified: cyanidin-3-glucoside (84.10 % out of total anthocyanins), cyanidin-3,3'-diglucoside (7.38 % out of total anthocyanins), cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside) (6.30 % out of total anthocyanins), cyanidin-3-xyloside (1.50 % out of total anthocyanins) and cyanidin-3-rutinoside (0.60 % out of total anthocyanins). These identified compounds were evaluated with a molecular docking study to realize anti-inflammatory potential of blackberry fruit extract. Moreover, the level of selectivity of inhibition of compounds was classified according to the following requirements:  $IC_{50} < 0.001$  mM (high selective);  $0.05 > IC_{50} > 0.01$  (medium selective);  $IC_{50} > 0.05$  mM (low selective) [17].

According to the presented results in Table 1, it was shown that highly selective inhibitors of the COX-2 enzyme include cyanidin-3-xyloside, cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside), cyanidin-3-glycoside, while sodium diclofenac, quercetin, cyanidin-3-rutinoside were low-selective inhibitors and cyanidin-3,3'-diglucoside was inactive respectively to the COX-2 enzyme. The active center of the COX-2 enzyme structure is the following series of amino acids: ALA199, ALA202, THR206, TYR385, GLU203, HIS388, LEU391, LEU390, TRP387 (Table 1).

Further, the compounds' ability of blackberry fruit extract to inhibit phospholipase A2 was assessed. According to the results it was found that cyanidin-3-xyloside, cyanidin-3,3'-diglucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside) and cyanidin-rutinoside were highly selective inhibitors, while sodium diclofenac, quercetin were moderately selective inhibitors. The active center for inhibiting phospholipase A2 are amino acids: LYS147, VAL145, HIS144, TYR60, THR146, PHE22, TYR28 (Table 2).

The following important pro-inflammatory enzyme is 5-LOX. According to the results of the study, it was shown that cyanidin-3-xyloside, cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside), cyanidin-3-rutinoside, cyanidin-3,3'-diglucoside and cyanidin-3-glucoside were highly selective inhibitors. Quercetin and diclofenac sodium had medium selectivity to the pro-inflammatory enzyme is 5-LOX. Amino acids VAL81, ALA84,

**Table 2.** Molecular docking of the anthocyanins and anti-inflammatory drug standard diclofenac sodium and quercetin with the phospholipase A2

Ligand	Binding energy, $\Delta G_{bind}^a$ (kcal/mol)	Ki <sup>b</sup> , mmol	Binding site	Level of selectivity
Cyanidin-3-xyloside	-13.63	0.0000010272	A: PRO18, PHE22, LEU31, CYS45, HIS48, ASP49, TYR69, HIS48, PHE22, ASN23	High selectivity
Cyanidin-3,3'-diglucoside	-11.52	0.0000036	A: PHE5, ILE9, ASN23, TYR69, PRO18, TYR28, GLY30, GLY32, HIS48, ASP49, TYR69	High selectivity
Cyanidin-3-glucoside	-11.52	0.0000036	A: PHE5, ILE9, ASN23, TYR69, PRO18, TYR28, GLY30, GLY32, HIS48, ASP49, TYR69	High selectivity
Cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside)	-11.35	0.00000478	A: PHE5, ILE9, ASN23, TYR69, PRO18, TYR28, GLY30, GLY32, HIS48, ASP49, TYR69	High selectivity
Cyanidin-rutinoside	-9.73	0.00007347	A:PHE22, PHE106, GLY30, CYS45, HIS48, TYR69	High selectivity
Diclofenac sodium	-7.65	0.00248	A:PHE5, PHE22, HIS48, PHE106, TYR69	Moderate selectivity
Quercetin	-6.79	0.01062	A: PHE5, ILE9, PHE22, GLY30, CYS45, HIS48, ASP49	Moderate selectivity

$\Delta G_{bind}$ : free-binding energy; Ki: 50 % enzyme inhibition concentration.

**Table 3.** Molecular docking of the anthocyanins and anti-inflammatory drug standard diclofenac sodium and quercetin with the 5-LOX

Ligand	Binding energy, $\Delta G_{bind}^a$ (kcal/mol)	Ki <sup>b</sup> , mmol	Binding site	Level of selectivity
Cyanidin-3-xyloside	-11.36*	0.00000412	A:VAL70, ILE119, PHE123	High selectivity
Cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside)	-9.57*	0.000009607	A:PHE123, VAL70, ILE119, THR66	High selectivity
Cyanidin-3-rutinoside	-9.45*	0.0001193	A:PHE123, ILE110, THR66	High selectivity
Cyanidin-3,3'-diglucoside	-8.97*	0.00026528	A:VAL70, ILE119, THR66	High selectivity
Cyanidin-3-glucoside	-8.65*	0.000458	A:VAL70, ILE119, THR66	High selectivity
Quercetin	-6.45 <sup>a</sup>	0.01857	A:ILE119, THR66	Moderate selectivity
Diclofenac sodium	-6.00 <sup>a</sup>	0.03982	A:VAL81, ALA84, LEU11, ILE14, VAL15, LEU88	Moderate selectivity

$\Delta G_{bind}$ : free-binding energy, Ki: 50 % enzyme inhibition concentration.

LEU11, ILE14, VAL34, and LEU88 acted as an active center for binding the enzyme structure of 5-LOX (Table 3).

The following significant enzyme, which has a high activity in chronic inflammation process is NF-kB. There was not indicated any of a high selective inhibitor, except one medium selective inhibitor, cyanidin-3-xyloside, was established. In turn, the remaining compounds showed low selectivity for inhibition of the active center of NF-kB, which may indicate the complexity, and particularly the importance of inhibition of this enzyme. The active center of NF-kB was represented by the following amino acids: LYS147, LYS148, THR146, TYR60, LEU210, HIS144 (Table 4).

Furthermore, all obtained data were summarized, and the compounds were conditionally classified into three categories. The first category comprised compounds with high selectivity for the active site, the second included compounds with moderate selectivity, and the third consisted of compounds with low selectivity. This classification approach was applied to clearly identify compounds that interact most effectively with pro-inflammatory targets, as well as those exhibiting lower levels of interaction.

Table 5 shows the summarized results of molecular docking of pro-inflammatory enzyme inhibition of anthocyanins

of blackberry fruit extract. Results demonstrate, that no compound among both anthocyanins and drug standards inhibit high selective all mentioned pro-inflammatory targets. However, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside) and cyanidin-3-xyloside blocked three out four pro-inflammatory targets as COX-2, phospholipase A2 and 5-LOX. Whereas cyanidin-3,3'-diglucoside and cyanidin-3-rutinoside blocked two out of four targets as phospholipase A2 and 5-LOX. Although, it was determined that widespread applicable "gold standards" in medicine and science as sodium diclofenac and quercetin do not so effectively inhibit crucial targets of inflammation.

In an *in vivo* experimental study on a rat paw carrageenan edema model, blackberry fruit extract at a dose of 60.0 mg/kg significantly reduced paw edema by 100 % compared to the control group at the first and second hour. Subsequently, paw edema decreased by 82.0 % and 69.0 % after 3 and 4 hours, respectively, compared to the control group. The level of antiexudative activity of blackberry fruit extract at a dose of 30.0 mg/kg and 10.0 mg/kg was significantly ( $p > 0.05$ ) lower compared to the administration of a dose of blackberry fruit extract of 50.0 mg/kg. The use

**Table 4.** Molecular docking of the anthocyanins and anti-inflammatory drug standard diclofenac sodium and quercetin with the Nf-kB

Ligand	Binding energy	Ki <sup>b</sup>	Binding site	Level of selectivity
	$\Delta G_{bind}^a$ (kcal/mol)	mmol		
Cyanidin-3-xyloside	-6.34	0.0198	A:LYS244, TYR60, HIS144, THR146, LYS147	Moderate selectivity
Cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside)	-5.74	0.06224	A:LYS244, TYR60, HIS144, THR146, LYS147	Low selectivity
Cyanidin-3-glucoside	-5.38	0.1148	A:LYS244, PRO246, ALA245, TYR60, HIS144, SER211, LEU210, LYS147, ASP209, MET208	Low selectivity
Cyanidin-3-rutinoside	-4.44	0.55329	A:LYS147, LEU210, THR146, HIS144, TYR60	Low selectivity
Cyanidin-3,3'-diglucoside	-4.44	0.56509	A:LEU210, TYR60, HIS144, LYS147	Low selectivity
Diclofenac sodium	-3.90	1.38	A:TYR50, HIS144, LEU210, VAL145, THR146, LYS147	Low selectivity
Quercetin	-3.61	2.28	A:LYS145, LYS147, LEU210, THR146, THR60, HIS144	Low selectivity

$\Delta G_{bind}$ : free-binding energy, Ki: 50 % enzyme inhibition concentration.

**Table 5.** Schematic overview of the classification of anti-inflammatory drug standards and principal compounds identified in blackberry fruit extract

Compound	COX-2	phospho-lipase A2	5-LOX	Nf-kB	Number of closed key enzyme of inflammation
<b>Drug standard</b>					
Diclofenac sodium	#	&	&	#	2
Quercetin	#	&	&	#	2
<b>Compounds blackberry fruit extract</b>					
Cyanidin-3-glucoside	✓	✓	✓	#	3
Cyanidin-3,3'-diglucoside	#	✓	✓	#	2
Cyanidin-3-(3''-malonyl glycoside)	✓	✓	✓	#	3
Cyanidin-3-xyloside	✓	✓	✓	&	4
Cyanidin-3-rutinoside	#	✓	✓	#	2

✓: high level of selectivity; &: medium level of selectivity; #: lower of selectivity.

**Table 6.** Anti-inflammatory activity of the blackberry extract on the carrageenan edema model, n = 5 (M ± m)

Experimental conditions	Dose, mg/kg	Parameter	Dynamics of inflammation development, hours			
			1	2	3	4
Control pathology	–	$\Delta V$ , mL	0.47 ± 0.03	0.84 ± 0.06	1.10 ± 0.09	1.16 ± 0.09
Diclofenac Sodium	8.0	$\Delta V$ , mL	0.20 ± 0.01*	0.52 ± 0.04*	0.71 ± 0.04*	0.73 ± 0.04*
		AA, %	58.0	38.0	35.0	37.0
Quertin	3.5 <sup>5</sup>	$\Delta V$ , mL	0.27 ± 0.01*	0.51 ± 0.04*	0.84 ± 0.04*	0.81 ± 0.04*
		AA, %	43.0	39.0	24.0	30.0
Blackberry fruit extract	10.0	$\Delta V$ , mL	0.26 ± 0.02* <sup>**,§</sup>	0.62 ± 0.04* <sup>**,§</sup>	0.94 ± 0.06* <sup>**,§</sup>	1.00 ± 0.08* <sup>**,§</sup>
		AA, %	45.0	26.0	15.0	14.0
Blackberry fruit extract	30.0	$\Delta V$ , mL	0.0	0.46 ± 0.04* <sup>#,§</sup>	0.73 ± 0.04* <sup>#,§</sup>	0.81 ± 0.06* <sup>#,§</sup>
		AA, %	100.0	45.0	34.0	30.0
Blackberry fruit extract	60.0	$\Delta V$ , mL	0.0	0.01	0.20 ± 0.04* <sup>**,§,§</sup>	0.36 ± 0.04* <sup>**,§,§</sup>
		AA, %	100.0	99.0	82.0	69.0

\*: p < 0.05 – the level of statistical significance of the control pathology group; \*\*: p < 0.05 – reliable values for the drug diclofenac sodium; #: p < 0.05 – reliable values of the Quertin; &: p < 0.05 – reliable values of the blackberry fruit extract at a dose 10 mg/kg; §: p < 0.05 – reliable values of the blackberry fruit extract at a dose 30 mg/kg; Dose of Quertin expressed in term of quercetin, dose of dosage form – 50 mg/kg; AA: anti-inflammatory activity;  $\Delta V$ : size of the edema; n: number of animals in group.

of blackberry fruit extract at a dose of 60.0 mg/kg showed a significant reduction in edema after 1, 2, 3 and 4 hours compared to the reference drug diclofenac sodium. When comparing the experimental groups of the drug “Quertin” and blackberry fruit extract at a dose of 60.0 mg/kg, it was found that the level of antiexudative activity of “Quertin” was significantly ( $p > 0.05$ ) lower at all hours.

At a dose of 10.0 mg/kg, blackberry fruit extract was significantly inferior to the antiexudative effect of diclofenac sodium, and when compared with the reference drug “Quertin” at 1 hour the difference was not significant ( $p > 0.05$ ), and at 2, 3 and 4 hours the effect of “Quertin” was significantly higher ( $p > 0.05$ ).

The use of blackberry fruit extract at a dose of 30.0 mg/kg showed a significant reduction in edema at 1 hour, when compared with the drug diclofenac sodium, it was found that the level of antiexudative activity of diclofenac sodium was significantly ( $p > 0.05$ ) lower at 1 and 2 hours, and at 3, 4 hours the difference was not significant ( $p > 0.05$ ). In case of comparing the drug “Quertin” and blackberry fruit extract at a dose of 30 mg/kg, it was found that the level of antiexudative activity of “Quertin” was significantly ( $p > 0.05$ ) lower at 1, 2 and 3 hours, and at 4 hours the difference was not significant ( $p > 0.05$ ) (Table 6).

## Discussion

Inflammation represents a complex biological response to external or internal stimuli and is closely associated with the development of oxidative stress. To evaluate anti-inflammatory activity, the carrageenan-induced rat paw edema model was employed, as it reliably reflects the key mechanisms underlying the inflammatory process. According to the canonical progression of inflammation in this model, histamine and serotonin predominate during the first hour, pro-inflammatory cytokines during the second hour, and prostaglandins, particularly COX-2, from the third to the fifth hour. Based on the results obtained, the blackberry fruit extract demonstrated inhibitory activity across all phases of inflammation.

In a previous study, A. Rossi et al. [18] evaluated the protective effects of anthocyanins from blackberry at doses 10 mg/kg and 30 mg/kg in a rat model of acute lung inflammation. The blackberry fruit extract at a dose of 30 mg/kg showed a significant decreasing production of lipid peroxidation, prostaglandin E2 and nitrite/nitrate (NOx) as well as ameliorated the histopathological alteration compared to the control pathology group. Consistent with these findings, our study confirms the anti-inflammatory potential of blackberry-derived bioactive compounds; however, in contrast to the isolated anthocyanins used by A. Rossi et al., whether in our research we investigated a blackberry fruit extract at three doses 10 mg/kg, 30 mg/kg and 60 mg/kg. In our *in vivo* model of carrageenan-induced inflammation, the extract at doses 30 mg/kg and 60 mg/kg exhibited completely inflammation at all phases that are comparable with A. Rossi et al. research.

## Conclusions

1. Theoretical and experimental research of anti-inflammatory properties of blackberry fruit extract has been conducted using molecular docking analysis and an *in vivo* model of carrageenan-induced paw edema in rats, respectively.

2. Theoretical results have shown that blackberry anthocyanins possessed ability to inhibit all crucial pro-inflammatory targets as COX-2, phospholipase A2, 5-LOX and Nf-kB.

3. Experimental results have demonstrated that blackberry thick fruit extract at doses of 60.0 mg/kg and 30.0 mg/kg possessed ability significantly inhibited inflammation at all stages of the carrageenan-induced paw edema model.

**Prospects for further research.** Creating dosage form with blackberry fruit extract with pronounced antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activity. Moreover, conduct research of dosage form with blackberry extract for adjuvant therapy with antimicrobial drugs against resistant strains.

## Funding

The study was performed without financial support.

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

## Information about the authors:

Marchenko A. O., PhD student of the Department of Pharmacognosy and Nutriciology, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0009-0002-8616-0410](https://orcid.org/0009-0002-8616-0410)

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

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

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

ORCID ID: [0000-0001-9256-0934](https://orcid.org/0000-0001-9256-0934)

Lebedinets I. O., Specialist of Research Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6901-0045](https://orcid.org/0000-0001-6901-0045)

Yudkevych T. K., Deputy Director of Research Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-6173-2780](https://orcid.org/0000-0001-6173-2780)

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

Koval A. O., PhD, Associated Professor of the Department of General Chemistry, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9491-0459](https://orcid.org/0000-0001-9491-0459)

## Відомості про авторів:

Марченко А. О., аспірант каф. фармакогнозії і нутриціології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

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

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

Лебединець І. О., фахівець Навчально-наукового інституту прикладної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

Юдкевич Т. К., заступник директора з наукової роботи, Навчально-науковий інститут прикладної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.

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



Oleksandr Maslov (Олександр Маслов)  
alexmaslov392@gmail.com

## References

1. Nesci S, Spagnoletta A, Oppedisano F. Inflammation, Mitochondria and Natural Compounds Together in the Circle of Trust. *Int J Mol Sci.* 2023;24(7):6106. doi: [10.3390/ijms24076106](https://doi.org/10.3390/ijms24076106)
2. Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph BV, Alessa FM, Al-Mssallem MQ. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules.* 2022;27(9):2901. doi: [10.3390/molecules27092901](https://doi.org/10.3390/molecules27092901)
3. Azab A, Nassar A, Azab AN. Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. *Molecules.* 2016;21(10):1321. doi: [10.3390/molecules21101321](https://doi.org/10.3390/molecules21101321)
4. Lu Z, Wang X, Lin X, Mostafa S, Zou H, Wang L, et al. Plant anthocyanins: Classification, biosynthesis, regulation, bioactivity, and health benefits. *Plant Physiol Biochem.* 2024;217:109268. doi: [10.1016/j.plaphy.2024.109268](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109268)
5. Asnaashari M, Tajik R, Khodaparast MH. Antioxidant activity of raspberry (*Rubus fruticosus*) leaves extract and its effect on oxidative stability of sunflower oil. *J Food Sci Technol.* 2015;52(8):5180-7. doi: [10.1007/s13197-014-1564-7](https://doi.org/10.1007/s13197-014-1564-7)
6. Gil-Martínez L, Mut-Salud N, Ruiz-García JA, Falcón-Piñeiro A, Maijón-Ferré M, Baños A, et al. Phytochemicals Determination, and Antioxidant, Antimicrobial, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Blackberry Fruits. *Foods.* 2023;12(7):1505. doi: [10.3390/foods12071505](https://doi.org/10.3390/foods12071505)
7. Maslov O, Komisarenko M, Marchenko A, Plis D, Ponomarenko S, Osolodchenko T, et al. Comparing chemical composition, antimicrobial, anti-fungi and antioxidant activities of blackberry fruit thick and green tea leaf extract. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy.* 2025;45(1):18-29. doi: [10.52794/hujpharm.1477950](https://doi.org/10.52794/hujpharm.1477950)
8. Cenk E, Schmutz C, Pahlke G, Oertel A, Kollarova J, Mock HP, et al. Immunomodulatory Properties of Blackberry Anthocyanins in THP-1 Derived Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10483. doi: [10.3390/ijms221910483](https://doi.org/10.3390/ijms221910483)
9. Kaume L, Howard LR, Devareddy L. The blackberry fruit: a review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *J Agric Food Chem.* 2012;60(23):5716-27. doi: [10.1021/jf203318p](https://doi.org/10.1021/jf203318p)
10. Cuevas-Rodríguez EO, Dia VP, Yousef GG, García-Saucedo PA, López-Medina J, Paredes-López O, et al. Inhibition of pro-inflammatory responses and antioxidant capacity of Mexican blackberry (*Rubus* spp.) extracts. *J Agric Food Chem.* 2010;58(17):9542-8. doi: [10.1021/jf102590p](https://doi.org/10.1021/jf102590p)
11. Van de Velde F, Esposito D, Grace MH, Pirovani ME, Lila MA. Anti-inflammatory and wound healing properties of polyphenolic extracts from strawberry and blackberry fruits. *Food Res Int.* 2019;121:453-62. doi: [10.1016/j.foodres.2018.11.059](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.059)
12. Stefanov AV, editor. *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs].* Kyiv: Avitsena; 2001. Ukrainian.
13. Morris GM, Huey R, Olson AJ. Using AutoDock for ligand-receptor docking. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2008 Dec;Chapter 8:Unit 8.14. doi: [10.1002/0471250953.bi0814s24](https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0814s24)
14. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2025 update. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(D1):D1516-25. doi: [10.1093/nar/gkae1059](https://doi.org/10.1093/nar/gkae1059)
15. Burley SK, Bhatt R, Bhikadiya C, Bi C, Biester A, Biswas P, et al. Updated resources for exploring experimentally-determined PDB structures and Computed Structure Models at the RCSB Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(D1):D564-74. doi: [10.1093/nar/gkae1091](https://doi.org/10.1093/nar/gkae1091)
16. Tian W, Chen C, Lei X, Zhao J, Liang J. CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(W1):W363-7. doi: [10.1093/nar/gky473](https://doi.org/10.1093/nar/gky473)
17. Kondža M, Brizić I, Jokić S. Flavonoids as CYP3A4 Inhibitors In Vitro. *Biomedicines.* 2024;12(3):644. doi: [10.3390/biomedicines12030644](https://doi.org/10.3390/biomedicines12030644)
18. Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondello L, Genovese T, et al. Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res.* 2003;37(8):891-900. doi: [10.1080/1071576031000112690](https://doi.org/10.1080/1071576031000112690)



# Дослідження місцевоподразнювальної та сенсibiliзаційної активності комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER *in vivo*

Ю. В. Вороніна-Туззовських<sup>1,A,B,C</sup>, В. М. Полетай<sup>1,C,D</sup>, О. С. Бондар<sup>1,E,F</sup>,  
В. О. Янченко<sup>1,E,F</sup>, І. О. Савоста<sup>2,B</sup>

<sup>1</sup>Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка, Україна; <sup>2</sup>ТОВ «Іл Сав Амбер», м. Київ, Україна

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

**Мета роботи** – дослідити місцевоподразнювальний вплив на шкіру та кон'юнктиву очей комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER і проаналізувати його сенсibiliзаційну активність *in vivo*.

**Матеріали і методи.** Здійснили серію хронічних експериментів з різною тривалістю (48 годин, 14 днів і 4 тижні) для дослідження місцевоподразнювальної дії препарату *in vivo* (на білих статевозрілих мишах, 2 групи тварин, одна з яких контрольна, n = 20 – метод шкірних аплікацій; та на морських свинках білої масті або з білими плямами масою 300–400 г, 2 групи тварин, одна з яких контрольна, n = 10 – кон'юнктивальна проба) та для оцінювання сенсibiliзаційної дії препарату *in vivo* (на морських свинках білої масті масою 300–400 г, 4 групи тварин, дві з яких контрольні, n = 20 – метод повторних шкірних аплікацій).

**Результати.** Дослідження шкірно-подразнювальної дії препарату у мишей показали, що нашкірні аплікації препарату впродовж 14 днів не викликали ознак запалення та ушкодження, як-от почервоніння, набряків, висипу та виразкування. Загальна поведінка піддослідних тварин (рухливість, апетит, шерстяний покрив) не відрізнялися від такої у контрольній групі. За даними кон'юнктивальної проби, не виявлено гіперемії та набряку кон'юнктиви, склери та слізної протоки, а також не зафіксовано реакції гіперчутливості негайного типу. Дослідження сенсibiliзаційних властивостей досліджуваного препарату методом нашкірних аплікацій не виявило реакцій гіперчутливості негайного й уповільненого типів у піддослідних тварин *in vivo*.

**Висновки.** Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER не впливав на загальну поведінку, не спричиняв місцевоподразнювальної дії та не виявляв сенсibiliзаційної активності у піддослідних тварин *in vivo*.

**Ключові слова:** комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER, місцева переносимість, гіперчутливість до екстрактів бурштину.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 164-168

## Study of local irritant and sensitizing activity of the amber-based oil complex TM IL SAV AMBER *in vivo*

Yu. V. Voronina-Tuzovskykh, V. M. Poletai, O. S. Bondar, V. O. Yanchenko, I. O. Savosta

**The aim** of the article is to investigate the local irritant effect on the skin and conjunctiva of the eyes of the amber-based oil complex TM IL SAV AMBER and to analyze its sensitizing activity *in vivo*.

**Materials and methods.** A series of chronic experiments of different durations (48 hours, 14 days and 4 weeks) were used to study the local irritant effect of the drug *in vivo* (on white sexually mature mice, 2 groups of animals, one of which was a control, n = 20 – method of skin applications; and on white-colored or white-spotted guinea pigs weighing 300–400 g, 2 groups of animals, one of which was a control, n = 10 – conjunctival test) and to study the sensitizing effect of the drug *in vivo* (on white-colored guinea pigs weighing 300–400 g, 4 groups of animals, two of which were control, n = 20 – method of repeated skin applications).

**Results.** Studies of the skin irritation effect of the drug in mice showed that dermal applications of the studied drug for 14 days did not cause signs of inflammation and damage – redness, edema, rashes and ulceration. The general behavior of the experimental animals (mobility, appetite, coat) did not differ from that of the control group. The conjunctival test did not reveal hyperemia and edema of the conjunctiva, sclera and lacrimal duct, and also did not cause immediate-type hypersensitivity reactions. The study of the sensitization properties of the studied drug using dermal applications did not reveal immediate-type and delayed-type hypersensitivity reactions in experimental animals *in vivo*.

### ARTICLE INFO

UDC 615.32:549.892.1:616-092.9].065:57.085  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.352352

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):164-168

**Keywords:** amber-based oil complex TM IL SAV AMBER, local tolerance, hypersensitivity to amber extracts.

Received: 17.02.2026 // Revised: 13.04.2026 // Accepted: 21.04.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Conclusions.** The oil complex based on amber TM IL SAV AMBER did not affect general behavior, did not cause local irritation, and did not exhibit sensitizing activity in the studied animals *in vivo*.

**Keywords:** amber-based oil complex TM IL SAV AMBER, local tolerance, hypersensitivity to amber extracts.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):164-168**

Бурштин – це вид смоли викопних дерев з багатьма біоактивними властивостями, які здавна використовують у медицині. З часів Гіппократа відомі численні лікувальні властивості бурштину: загальнозміцнювальні, протизапальні, протимікробні тощо. Бурштин, окрім застосування в ювелірній галузі, є джерелом комплексу натуральних біологічно активних компонентів, які використовували та продовжують використовувати в багатьох галузях.

Сучасні методи дослідження складових компонентів бурштину: раманівська спектроскопія, тонкошарова хроматографія, мас-спектрометрія, диференціальний термічний аналіз, ІЧ-спектроскопія [1] – дають змогу суттєво розширити спектр застосування препаратів на його основі.

Останніми роками розроблено, протестовано та впроваджено нові лікарські засоби на основі екстрагованих компонентів бурштину [2,3]. Не припиняється пошук економічно вигідних, ефективних, нетоксичних базових форм на основі бурштину, які можна використовувати як вихідну сировину для виготовлення нових, більш ефективних фармацевтичних препаратів і косметичних засобів. Досліджують широкий спектр різнополярних розчинників для екстрагування цільових компонентів з бурштину. Встановлено, що перспективним розчинником є етанол, який відповідає вимогам щодо індиферентності, безпеки та доступності [4].

Високий вміст бурштинової кислоти визначено саме в спиртових настоянках, що дає змогу розширити асортимент її застосування в лікарських препаратах і косметичних засобах, які б відповідали токсикологічним вимогам. Етанольні екстракти українського бурштину мають високу антиоксидантну активність [5].

Досліджують також водні екстракти та дисперсії без термодеструкції молекулярної структури бурштину. Встановлено, що вони поліпшують стан людей похилого віку, впливають на вестибулярні функції, когнітивні функції та пам'ять, що можна використати під час розроблення геріатричних препаратів та укладання програм оздоровчих процедур [6]. Водні розчини також мали стимулювальний ефект на ріст рослин [7].

Наукові дослідження спрямовані також на пошук недорогої вихідної сировини: відходи виробництва та обробки бурштину визначають як цінну сировину хімічної, фармацевтичної та парфумерної галузей [8].

Здійснюють аналіз хімічного складу пасти-абразиву, одержаної з бурштину, та комплексу-мацерату на основі бурштину [9,10]. Комплекси-мацерати, одержані на основі олії та бурштинової пудри абразиву, можуть бути перспективною сировиною для фармацевтичної промисловості.

У структурі споживання продукції з натурального бурштину майже 10 % потребує ринок натуральної бурштинової олії для косметичної промисловості [4]. Тому

доцільною є розробка нових різноманітних препаратів для косметичної та фармацевтичної галузі. Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER є інноваційним продуктом, що перебуває на етапі дослідження методами якісного та кількісного аналізу. Цей олійний комплекс розроблений як основа для створення ефективних косметичних і фармацевтичних препаратів завдяки унікальним властивостям компонентів.

### Мета роботи

Дослідити місцевоподразнювальний вплив на шкіру та кон'юнктиву очей комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER та проаналізувати його сенсibilізаційну активність *in vivo*.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження місцевої переносимості та сенсibilізаційних властивостей комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER здійснили згідно з наказом МОЗ України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» від 14.12.2009 року № 944 [11].

Миші та морські свинки – загальноприйняті види лабораторних тварин для доклінічних досліджень лікарських засобів [12]. В експериментальних дослідженнях використано 20 білих статевозрілих безпородних мишей обох статей масою 17–23 г, 30 статевозрілих морських свинок білої масті або з білими плямами масою 300–400 г, що пройшли попередню акліматизацію протягом 10 діб.

Догляд, утримання та годування тварин здійснили відповідно до вимог внутрішніх нормативних документів у стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та їжі; інвертоване світло 8:00–20:00, температура повітря 20–25 °С.

За день до введення препарату всіх тварин оглянув кваліфікований ветеринар. До дослідження залучені тільки здорові тварини. Рандомізацію на групи проведено механічним способом. Маркування тварин здійснено за допомогою 1 % розчину діамантового зеленого.

**Дослідження шкірно-подразнювальної дії у мишей.** Дослідження здійснили на 20 білих статевозрілих мишах обох статей масою 17–23 г, яких утримували в стандартних умовах віварію (годування й утримання). Досліджуваний препарат наносили на підготовлену шкіру боку дослідних тварин двічі на день за допомогою марлевої пов'язки. Протягом наступних 2 тижнів спостерігали за станом шкірного покриву на місці аплікації препарату й за загальною поведінкою тварин щодо можливої несприятливої дії препарату.

Таблиця 1. Вплив комплексу олійного на основі бурштину при нашкірному нанесенні білим мишам

Група тварин, n = 10	Шкіра (1–14 дні)			Загальна поведінка (1–14 дні)
	Гіперемія	Набряк	Виразки	
Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER	0	0	0	Відхилень немає
Контроль	0	0	0	Відхилень немає

Реакцію враховували щодня за шкалою шкірних проб у балах: 0 – немає реакції; 1 – легка гіперемія; 2 – виражена гіперемія та набряк; 3 – виражена гіперемія, набряк і виразки [13,14,15].

Тваринам контрольної групи на шкіру наносили воду для ін'єкцій в еквівалентній кількості.

**Дослідження місцевоподразнювальної та сенсibiliзаційної дії препарату на слизову оболонку очей морських свинок (кон'юнктивальна проба).** Дослідження здійснили на 10 морських свинках обох статей масою 300–400 г, яких поділили на 2 групи: дослідну (препарат) і контрольну (0,9 % розчин натрію хлориду), по 5 тварин у кожній. На кон'юнктиву обох очей тварин дослідної групи очною піпеткою наносили по 1 краплі препарату; тваринам контрольної групи в кон'юнктивальний мішок вводили 0,9 % розчин натрію хлориду. Спостереження здійснювали протягом 3 днів.

За реакцією спостерігали через 15 хв (швидка реакція) і через 24–48 год (гіперчутливість уповільненого типу), оцінювали за шкалою (у балах): 0 – немає змін слизової кон'юнктиви (реакції немає); 1 – легке почервоніння кон'юнктиви; 2 – почервоніння кон'юнктиви та набряк.

**Дослідження сенсibiliзаційних властивостей препарату.** Дослідження здійснили на 20 морських свинках білої масті або з білими плямами масою 300–400 г після 10-денного карантину й стандартної дієти. Методом випадкової вибірки тварин поділили на контрольні й дослідні групи, по 5 особин у кожній.

**Дослідження на реакції гіперчутливості негайного типу.** Для проведення експерименту у тварин обох груп за добу до початку дослідження вистригали шерсть на боку так, щоб площа нанесення становила 10 % загальної поверхні тіла. Морським свинкам вводили досліджувані препарат (1 група) у максимально припустимому об'ємі для цього шляху введення – 0,5 мл на особину. Середня доза препарату, яку отримували тварини, становила 1,25 мл/кг. Схема сенсibiliзації: перші три нанесення препарату – через день; завершальне нанесення – на 14 день після сенсibiliзації, яке також роблять і контрольній групі тварин (2 група), тваринам якої до цього вводили тільки 0,9 % розчин натрію хлориду.

Зауважимо, що при високому ступені сенсibiliзації анафілактичний шок може розвинути при введенні завершальної дози препарату незалежно від шляху введення: парентерально, інгаляційно, перорально, місцево, у кон'юнктивальний мішок, інтраназально. Ступінь тяжкості анафілактичного шоку оцінюють у балах: 0 – шоку немає, ознаки не зафіксовано; + – слабкий шок (занепокоєння, прискорене дихання, чесання ділянки голови,

довільне сечовипускання, дефекація); ++ – помірний шок (невеликі судороги, виражені прояви бронхоспазму); +++ – шок тяжкого ступеня (загальні судороги, асфіксія, тварина втрачає здатність стояти на лапах, падає набік, але не гине); ++++ – смертельний шок [13,14,15].

**Дослідження на шкірні реакції гіперчутливості сповільненого типу.** На вистрижену ділянку шкіри бічної поверхні тулуба морських свинок, ближче до середини, наносили по 3 краплі досліджуваного препарату шляхом 20 повторних нашкірних аплікацій впродовж 4 тижнів по 5 разів на тиждень (метод нашкірних аплікацій). Реакцію шкіри визначали щодня за шкалою оцінювання шкірних проб: 0 – реакції немає; + – точкова слабка гіперемія; ++ – точкова виражена гіперемія; +++ – суцільна помірна гіперемія; ++++ – суцільна виражена гіперемія й інфільтрація [13,14,15].

Цей експеримент дає змогу виявити небезпеку розвитку контактного дерматиту залежно від дози досліджуваного фармакологічного засобу.

Перше оцінювання реакцій здійснювали після 10 аплікацій. Якщо виявляли алергічні реакції, нанесення речовини припиняли. У разі негативного або сумнівного результату здійснювали 20 аплікацій, після цього повторно оцінювали реакцію тварин на досліджуваній препарат.

## Результати

Дослідження шкірно-подразнювальної дії препарату у мишей показали, що нашкірні аплікації препарату впродовж 14 днів не викликали ознак запалення та ушкодження, як-от почервоніння, набряків, висипу та виразкування (табл. 1). Загальна поведінка піддослідних тварин (рухливість, апетит, шерстяний покрив) не відрізнялися від такої у контрольній групі.

На підставі отриманих даних дійшли висновку, що одноразова аплікація досліджуваного комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER не чинить шкірно-подразнювальної дії на неушкоджену шкіру в мишей і не впливає на їхню поведінку.

За результатами дослідження місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку очей морських свинок, не виявлено жодної піддослідної тварини зі швидкою (протягом перших 15 хв) або відстроченою (через 24–48 год) реакцією. Стан слізної протоки, склери і кон'юнктиви після введення дози досліджуваного препарату загалом залишався незмінним (табл. 2).

Кон'юнктивальна проба є дуже чутливим тестом і в низці випадків дає змогу виявити реакцію тварин на алерген при слабкому й негативному шкірних тестах. Не зафіксовано

Таблиця 2. Вплив комплексу олійного на основі бурштину на слизову оболонку очей морських свинок

Група тварин, n = 5	Час після аплікації, годин		
	0,25	24	48
	Оцінка в балах		
Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER	0	0	0
Контроль	0	0	0

Таблиця 3. Вплив комплексу олійного на основі бурштину на реакцію гіперчутливості негайного типу *in vivo*, бали

Період дослідження					
15 хв		24 години		48 годин	
Контроль	Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER	Контроль	Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER	Контроль	Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0

Таблиця 4. Оцінка сенсibiliзаційних властивостей комплексу олійного на основі бурштину на реакції гіперчутливості уповільненого типу методом нашірних аплікацій *in vivo*, бали

Період дослідження			
Через 2 тижні (10 аплікацій)		Через 4 тижні (20 аплікацій)	
Контроль	Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER	Контроль	Комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

ознаки гіперемії та набряку кон'юнктиви, склери та слізної протоки, і тому зробили висновок, що досліджуваний комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER не чинить місцевопоздрознювальної дії на неушкоджену слизову оболонку ока морських свинок, а також не викликає реакції гіперчутливості негайного типу.

Дослідження сенсibiliзаційних властивостей препарату здійснили серією з 2 дослідів на 4 групах морських свинок (2 дослідні та 2 контрольні), по 5 тварин у кожній. Результати дослідження на реакції гіперчутливості негайного типу наведено в таблиці 3.

У результаті дослідження встановлено, що в усіх групах виживаність тварин становила 100 %. Після введення останньої дози протягом усього періоду дослідження ні в дослідній, ані в контрольній групі видимі реакції не зафіксовано.

За даними методу нашірних аплікацій досліджуваного комплексу олійного на основі бурштину за шкалою оцінювання шкірних проб, ознак патологічної реакції немає

(табл. 4). Цей тест підтвердив безпеку препарату щодо розвитку контактних подразнень і реакцій гіперчутливості уповільненого типу.

Отже, комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER не показав сенсibiliзаційних (алергенних) властивостей в тестах *in vivo*.

### Обговорення

Оскільки не зафіксовано ознаки запалення та ушкодження (почервоніння, набряки, висип і виразкування), зробили висновок, що нашірні аплікації досліджуваного комплексу олійного на основі бурштину TM IL SAV AMBER на неушкоджену шкіру мишей не чинять шкірно-поздрознювальної дії.

За даними кон'юнктивальної проби, не виявлено ознаки гіперемії та набряку кон'юнктиви, склери та слізної протоки, а отже досліджуваний комплекс олійний на основі бурштину TM IL SAV AMBER не мав місцевопоздрознювального ефекту на неушкоджену слизову

оболонку ока морських свинок та не спричиняв реакції гіперчутливості негайного типу. Внаслідок повторних нанесень препарату не зафіксовано випадки контактних подразнень на шкірі, гіперемії, набряків чи висипу. На підставі цих даних дійшли висновку, що він не викликає реакцій гіперчутливості негайного та уповільненого типу.

## Висновки

Комплекс олійний на основі бурштину ТМ ІЛ SAV AMBER не впливав на загальну поведінку, не спричиняв місцевоподразнювальної дії та не виявляв сенсibilізаційної активності у піддослідних тварин *in vivo*.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у продовженні досліджень впливу комплексу олійного на основі бурштину ТМ ІЛ SAV AMBER на морфологію та функціонування окремих структур організму *in vivo* з дотриманням сучасних вимог біоетики.

## Етичне схвалення

Програму досліджень розглянуто й затверджено Комісією з питань біоетики Національного університету «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка (висновок від 10.02.2026 року). Дослідження здійснили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями (Страсбург, 1986), Директиви 86/609/ЄЕС і Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.02.2006 року.

## Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

## Конфлікт інтересів: відсутній.

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

## Відомості про авторів:

Вороніна-Туззовських Ю. В., канд. фарм. наук, доцент каф. хімії, технологій та фармації, Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6673-2154

Полетай В. М., канд. біол. наук, доцент каф. біології та здоров'я людини, Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-0231-2740

Бондар О. С., канд. техн. наук, доцент каф. фізики та астрономії, Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9612-0546

Янченко В. О., канд. фарм. наук, доцент каф. хімії, технологій та фармації, Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т. Г. Шевченка, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6727-4124

Савоста І. О., директор ТОВ «Іл Сав Амбер», м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0009-0004-0144-3492

## Information about the authors:

Voronina-Tuzovskyykh Yu. V., PhD, Associate Professor of the Department of Chemistry, Technology and Pharmacy, T. H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium", Ukraine.

Poletai V. M., PhD, Associate Professor of the Department of Biology and Human Health, T. H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium", Ukraine.

Bondar O. S., PhD, Associate Professor of the Department of Physics and Astronomy, T. H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium", Ukraine.

Yanchenko V. O., PhD, Associate Professor of the Department of Chemistry, Technology and Pharmacy, T. H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium", Ukraine.

Savosta I. O., Director, LLC IL SAV AMBER, Kyiv, Ukraine.



Олена Бондар (Olena Bondar)  
bondar4elena@gmail.com

## References

- Bielichenko OP., Haievskiy YD. Doslidzhennia burshtynu metodom infrachervonoj spektroskopii [Study of amber by infrared spectroscopy]. Precious and decorative stones. 2012;(4):12-6. Ukrainian. Available from: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ktdk\\_2012\\_70\\_4\\_5](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ktdk_2012_70_4_5)
- Palchevska TA, Lysenko YuS, Hula, LD, Razhyk AV. Zastosuvannia burshtynovoi kysloty ta natriiu suksynatu u farmatsii [Application of succinic acid and sodium succinate in pharmacy]. In: Science, society, education: topical issues and development prospects. 2020 Apr 12-14; Kharkiv, Ukraine: SPC "Sci-conf.com.ua"; 2020. p. 683-7. Ukrainian. Available from: <https://er.knugd.edu.ua/handle/123456789/19673?locale=en>
- Tian Y, Zhou S, Takeda R, Okazaki K, Sekita M, Sakamoto K. Anti-inflammatory activities of amber extract in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. Biomed Pharmacother. 2021;141:111854. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111854
- Chornyj VM, Mysiura TH, Popova NV, Zavalov VL. [Solvent selection for extraction of target components from amber]. Journal of Chemistry and Technologies. 2021;29(1):92-9. Ukrainian. doi: 10.15421/082106
- Chornyj V, Krúma Z, Mysiura T, Popova N, Zavalov V. Comparative extraction of components from Ukrainian and Baltic ambers. Proc Latv Acad Sci Sect B Nat Exact Appl Sci. 2023;77(5-6):244-9. doi: 10.2478/prolas-2023-0035
- Mironov OL, Kachalova NM, Dziuba OI, Levchuk NY, Bohza SL. [Research of biological activity of Ukrainian amber]. Fyzyko-orhanichna khimiia, farmakolohiia ta farmatsevtichna tekhnolohiia biolohichno aktyvnykh rehovyn. 2018;(1):13-24. Ukrainian. Available from: <https://test.knugd.edu.ua/handle/123456789/23539>
- Levchuk NY, Dziuba OI, Kachalova NM, Mironov OL. Biological activity of aqueous solution of amber. Biotechnol Acta. 2017;10(6):53-60. doi: 10.15407/biotech10.06.053
- Kovalevych LA. Teoretychni uzahalennia oznak i kryteriiv poshuku ta ot-sinka rodovysych burshtynu na terytorii Ukrainy [Theoretical generalization of signs and criteria for the search and evaluation of amber deposits on the territory of Ukraine]. Visnyk ZhDTU. 2007;2(41):1-6. Ukrainian. Available from: [https://library.ztu.edu.ua/e-copies/VISNUK/41\\_II/143.pdf](https://library.ztu.edu.ua/e-copies/VISNUK/41_II/143.pdf)
- Voronina-Tuzovskyykh YV, Tkachenko SV, Kurmakova IM, Yanchenko VO, Usov AM, Savosta IO, et al. Elementnyi sklad burshtynovoi pudry-abrazyvu ta perspektyvnist yii vykorystannia yak syrovynny farmatsevtichnoi promyslovosti [Elemental composition of amber abrasive powder and perspective its use as a raw material pharmaceutical industry]. Scientific Collection "InterConf". 2023;39:461-9. Ukrainian. doi: 10.51582/interconf.19-20.11.2023.049
- Voronina-Tuzovskyykh Yu, Mikulenko O, Bondar O, Kurmakova I, Pleshakov O. Khimichni sklad materatu na osnovi burshtynu: metody analizu ta rezultaty [Chemical composition of amber-based macerate: methods of analysis and results]. Biota. Human. Technology. 2024;(2):171-79. Ukrainian.
- Ministry of Health of Ukraine. Poriadok provedennia doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv ta ekspertyzy materialiv doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv [Procedure for conducting preclinical studies of medicinal products and examination of materials for pre-clinical studies of medicinal products. Order dated 2009 Dec 14, No. 944. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10/ed20270101?lang=en#Text>
- Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. Elsevier; 2012.
- Stefanov AV, editor. Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Pre-clinical studies of medicinal products]. Kyiv: Avitsena; 2001. Ukrainian.
- European Medicines Agency. Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products. EMA/CHMP/SWP/2145/2000 Rev. 1, Corr. 1, 22 October 2015.
- Kotsymbas IY, Bisyuk IY, Gorzheev VM, Malik OG, Zhila MI, Kosenko YM, et al. Klinichni doslidzhennia veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok [Clinical trials of veterinary drugs and feed additives]. Lviv: SAM Publishing House LLC. 2013. Ukrainian.



# Дослідження впливу масової частки циміналю у супозиторіях на рівень їх антимікробної активності

М. Ю. Зеленюк<sup>1</sup>A,C,D, Н. Л. Количева<sup>1</sup>B,E,F

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

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

Сучасна концепція лікування інфекційних уражень урогеніталій ґрунтується на цілеспрямованому етіотропно та патогенетично обґрунтованому призначенні ефективних лікарських засобів. При цьому найважливішого значення набуває правильний вибір лікарської тактики та відповідних фармакотерапевтичних засобів, враховуючи специфіку патології. Для успішної реалізації цього напрямку перспективним є використання активних фармацевтичних інгредієнтів, які разом із широким спектром антибактеріальної, антимікотичної дії та мінімальним рівнем токсичності не спричиняють резистентність штамів збудників захворювань, що передаються статевим шляхом. Створення ефективних, комплексних і доступних для практичної медицини вагінальних лікарських форм на основі інноваційних сполук, що містять галоїдні замісники, сприятиме підвищенню ефективності венерологічної допомоги та покращенню репродуктивного здоров'я населення України.

**Мета роботи** – визначення оптимальної кількості циміналю у вагінальних супозиторних композиціях.

**Матеріали і методи.** Вплив масової частки циміналю у вагінальних супозиторіях оцінювали на модельних поліетиленоксидних композиціях-носіях із додаванням 0,05 мл димексиду, який, за даними наукової літератури, підвищує його розчинність і ступінь антимікробної активності. Кількість циміналю у досліджуваних вагінальних лікарських формах становила 0,01–0,15 г, середня маса супозиторія – 3 г. Дослідження здійснили із використанням математичного плану однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями. Як параметр оптимізації використано рівень специфічної активності експериментальних супозиторних мас, яку оцінювали методом дифузії в агар щодо грамнегативної *Pseudomonas aeruginosa* та грибів *Candida albicans*; ураження якими уретральних шляхів є складною клінічною проблемою, оскільки вони дуже поширені та мають високу стійкість до фармакотерапії.

**Результати.** Досліджені вагінальні супозиторії, що містять циміналь у різних концентраціях, показали доволі високий рівень антибактеріальної та антимікотичної активності; її рівень зростає з підвищенням дози активної речовини.

**Висновки.** Результати дослідження антимікробної активності супозиторних композицій із циміналем підтверджують, що на їхню ефективність статистично значущо впливає масова частка активного фармацевтичного інгредієнта. Оптимальний рівень антимікробної активності м'якої вагінальної лікарської форми забезпечує масова частка циміналю 0,15 г при середній масі супозиторія 3 г.

**Ключові слова:** лікарські засоби, антимікробна активність, допоміжні речовини, активні фармацевтичні інгредієнти.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 169-173**

## Research of the influence of the mass fraction of ciminal in suppositories on the level of their antimicrobial activity

M. Yu. Zeleniuk, N. L. Kolycheva

The modern concept of treatment of infectious urogenital lesions is based on purposeful etiotropic and pathogenetically justified prescription of effective drugs. At the same time, the correct choice of medical tactics and appropriate pharmacotherapeutic agents, considering the specific features of the pathology, becomes of paramount importance. For the successful implementation of this direction, the use of active pharmaceutical ingredients is promising, which, along with a wide range of antibacterial and antimycotic effects and a minimum level of toxicity, does not cause the appearance of resistant strains of sexually transmitted pathogens. The creation of effective, complementary and accessible for practical medicine vaginal dosage forms based on innovative compounds containing halide substituents will increase the efficiency of venereal care and improve the reproductive health of the population of Ukraine.

**The aim of this work** is to determine the optimal amount of ciminal in vaginal suppository compositions.

**Materials and methods.** The effect of the mass fraction of ciminal in vaginal suppositories was evaluated on model polyethylene oxide carrier compositions with the addition of 0.05 ml of dimexide, which, according to the literature, increases its solubility and degree of antimicrobial activity. The amount of ciminal in the studied vaginal dosage forms was 0.01–0.15 g, taking into account the average suppository weight of 3 g. The study was conducted using a mathematical plan of one-factor analysis of variance with repeated observations. As an

### ARTICLE INFO



UDC 615.454.2.015.014:615.291.9.015.11  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.356892

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):169-173

**Keywords:** drugs, antimicrobial activity, excipients, active pharmaceutical ingredients.

Received: 16.03.2026 // Revised: 06.05.2026 // Accepted: 12.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

optimization parameter, the level of specific activity of experimental suppository masses was used, which was evaluated by diffusion into agar against gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* fungi, the lesion of which urethral pathways is a serious clinical problem, considering their prevalence and high resistance to pharmacotherapy.

**Results.** It was found that the studied vaginal suppositories containing different amounts of ciminal exhibit a sufficiently high level of antibacterial and antimycotic activity, the level of which increases with increasing dose of the active substance.

**Conclusions.** Studies of the antimicrobial activity of suppository compositions with ciminal prove that their effectiveness is statistically significantly influenced by the mass fraction of the active pharmaceutical ingredient. It was found that the optimal level of antimicrobial activity of the soft vaginal dosage form provides a mass fraction of ciminal in an amount of 0.15 g, taking into account the average mass of suppositories of 3 g.

**Keywords:** drugs, antimicrobial activity, excipients, active pharmaceutical ingredients.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):169-173**

Питання щодо ефективного лікування патологій сечостатевої системи має важливе значення, враховуючи їхню поширеність, досить високий ризик виникнення асоційованих ускладнень і необхідність специфічного тривалого лікування [1]. Особливий науковий і клінічний інтерес викликає фармакотерапія захворювань, що передаються статевим шляхом, оскільки вони асоційовані з високою імовірністю формування ускладнень, що можуть спричинити порушення репродуктивної функції, патології плода та новонароджених [2,3].

Загальноприйняті протоколи терапії урогенітальних інфекційних уражень ґрунтуються на обґрунтованому цілеспрямованому призначенні патогенетичних та етіотропних фармакотерапевтичних засобів. У зв'язку з цим найважливішим завданням є раціональний вибір терапевтичної тактики із використанням специфічних ознак патології [4]. Нині її основною фармакотерапевтичною складовою є застосування місцевих антимікробних засобів, системних антибіотиків (у тому числі композицій) та імуностимулювальних препаратів [5].

Антибіотики – ефективні засоби, що разом із тим мають низку істотних недоліків. Зокрема, вони асоційовані з високим ризиком виникнення резистентних штамів збудників інвазій, можливістю розвитку різних побічних реакцій. Це обґрунтовує необхідність раціонального використання антибіотикотерапії, зокрема в схемах лікування гострих уражень органів сечостатевої системи [6].

Вагінальне застосування антисептиків широкого спектра дії у формі м'яких лікарських засобів є ефективною тактикою лікування захворювань, що передаються статевим шляхом, особливо на початкових стадіях терапії та у випадках хронічного перебігу хвороби. Локальне застосування антисептичних препаратів сприяє значному зниженню кількості патогенних мікроорганізмів та їхньої активності, дає змогу зберегти необхідний нормобіоценоз вагінального середовища та зменшити ризик виникнення побічних ефектів призначеної терапії [7].

Поєднання ефективної доставки активних фармацевтичних інгредієнтів безпосередньо до осередку ураження та мінімізації їхніх побічних ефектів сприятиме розширенню асортименту наявних препаратів і розробці інноваційних антимікробних лікарських засобів [8].

До перспективних активних фармацевтичних інгредієнтів, що чинять багатоцільову антибактеріальну, анти-

паразитарну та протигрибкову дію, належать сполуки, які мають нітрогрупу в положенні 5 та 7 хінолінового ядра, або галоїдні замісники (бром, селен, хлор, йод). Вони малотоксичні, резистентність до них виражена слабо та розвивається дуже повільно.

Одним із перспективних представників цього класу є пара-нітро- $\alpha$ -хлоркоричний альдегід – циміналь. У працях вітчизняних дослідників описано широкий спектр його протигрибкової та антибактеріальної активності, наявність сперматоцидної дії та слабких кумулятивних властивостей. Доведено також, що ця сполука не чинить ембріотоксичної, тератогенної, мутагенної, подразнювальної та алергенної дії.

На основі циміналю раніше було створено та зареєстровано препарат «Цидіпол», який у формі поліетиленоксидного розчину запропоновано для уретрального введення для профілактики і терапії захворювань, що передаються статевим шляхом. Виробництво фармакотерапевтичного засобу з 1988 року здійснювали на ВАТ «Лубнифарм» (Полтавська область), але через певний час його реєстрацію було припинено через недосконалу лікарську форму, яка не відповідала вимогам клінічної практики у венерології та потребам пацієнтів [9,10].

Зважаючи на наведені факти, розробка зручної аплікаційної вагінальної лікарської форми циміналю – супозиторіїв, які дають змогу забезпечити доставку активного фармацевтичного інгредієнта безпосередньо в орган-мішень із можливістю пролонгації дії, збільшити ступінь його біологічної доступності та надати високі споживчі характеристики, є актуальною для фармацевтичної й медичної науки і дасть змогу розширити фармакотерапевтичний арсенал ефективних вітчизняних препаратів для венерологічної практики.

Для наукового обґрунтування раціональної рецептури супозиторіїв вагінальних з антимікробною дією на початку досліджень доцільно визначити оптимальну кількість активного фармацевтичного інгредієнта в лікарській формі [11].

## Мета роботи

Визначення оптимальної кількості циміналю у вагінальних супозиторних композиціях.

Таблиця 1. Антибактеріальна активність супозиторних композицій щодо *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, мм

Масова частка циміналю, г (фактор А)	Номер випробувань			Сума	Середнє
	1	2	3		
0,01	9	10	11	30	10
0,02	16	17	17	50	16,7
0,05	18	19	19	56	18,7
0,1	20	20	21	61	20,3
0,15	21	21	23	65	21,7
Сума				262	–

Таблиця 2. Протигрибкова активність супозиторних композицій щодо *Candida albicans* ATCC 885-653, мм

Масова частка циміналю, г (фактор А)	Номер випробувань			Сума	Середнє
	1	2	3		
0,01	9	10	11	30	10
0,02	16	17	17	50	16,7
0,05	18	19	19	56	18,7
0,1	20	20	21	61	20,3
0,15	21	21	23	65	21,7
Сума				262	–

## Матеріали і методи дослідження

Оцінювання впливу масової частки циміналю у вагінальних супозиторіях здійснили на модельних поліетиленоксидних композиціях-носіях із додаванням димексиду, який, за даними наукової літератури, підвищує розчинність і ступінь антимікробної активності фармацевтичних інгредієнтів [12]. Кількість циміналю у досліджених вагінальних лікарських формах становила 0,01–0,15 г, середня маса супозиторія – 3 г. Димексид в експериментальні фармакотерапевтичні засоби вводили у кількості 0,05 г, зважаючи на його відому концентрацію у препараті «Цидіпол».

Дослідження здійснили з використанням математичного плану однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями, який сприяє скороченню термінів експерименту та підвищенню статистичної доказовості його результатів [13].

Як параметр оптимізації використано рівень специфічної активності експериментальних супозиторних мас, яку оцінювали методом дифузії в агар [14]. Антибактеріальну дію вагінальних лікарських форм циміналю оцінювали щодо відносно грамнегативної *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, ураження якою уретральних шляхів є складною клінічною проблемою, беручи до уваги її поширеність і високу стійкість до антибіотикотерапії [15].

Антимікотичну активність визначали щодо грибів *Candida albicans* ATCC 885-653, оскільки саме ця мікрофлора є основною супутньою у складі мікст-ін-

фекцій, що характерні для мікробних інвазій статевих органів [16].

## Результати

Результати експериментального оцінювання антимікробної активності поліетиленоксидних супозиторних композицій (середня маса – 3 г) з різною масовою часткою циміналю щодо *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Candida albicans* ATCC 885-653 наведено в таблицях 1 та 2 відповідно. Дані опрацьовано із застосуванням однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями.

Результати дисперсійного аналізу (ANOVA) антибактеріальної та протигрибкової дії супозиторних композицій (середня маса – 3 г) з різною масовою часткою циміналю щодо *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Candida albicans* ATCC 885-653 наведено в таблицях 3 і 4 відповідно.

## Обговорення

Дисперсійне оцінювання наведених даних показало, що масова частка циміналю чинить значущий вплив на антимікробну активність супозиторних мас на поліетиленоксидних носіях ( $F_{\text{спл.}} > F_{\text{табл.}}$ ).

Порівняння встановлених середніх значень досліджених чинників із застосуванням множинного рангового критерію Дункана [13] дало змогу побудувати такі переваги експериментального фактора:

Таблиця 3. Результати дисперсійного аналізу антибактеріальної активності щодо *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Джерело мінливості	Кількість ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	F <sub>експ.</sub>	F <sub>табл.</sub>
Кількість циміналю в супозиторіях	4	251,06	62,76	93,67	3,5
Помилка	10	6,67	0,67	–	–
Загальна сума	14	257,73	–	–	–

Таблиця 4. Результати дисперсійного аналізу протигрибкової активності щодо *Candida albicans* ATCC 885-653

Джерело мінливості	Кількість ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	F <sub>експ.</sub>	F <sub>табл.</sub>
Кількість циміналю в супозиторіях	4	314,4	78,6	148,3	3,5
Помилка	10	5,33	0,53	–	–
Загальна сума	14	319,73	–	–	–

– щодо антибактеріальної активності супозиторних композицій із різною масовою часткою циміналю: 0,15 г (0,1 г) > 0,05 г > 0,02 г > 0,01 г;

– щодо протигрибкової активності супозиторних композицій із різною масовою часткою циміналю: 0,15 г > 0,1 г > 0,05 г > 0,02 г > 0,01 г;

У результаті аналізу даних, що одержані під час дослідження, дійшли висновку про недоцільність підвищення дози циміналю у вагінальних супозиторіях понад 0,15 г, оскільки не зафіксовано статистично значущої різниці за рівнем антибактеріальної дії між близькими масовими частками активних фармацевтичних інгредієнтів.

## Висновки

1. Дослідження антимікробної активності супозиторних композицій із циміналем дало змогу встановити, що на їхню ефективність статистично значущо впливає масова частка активного фармацевтичного інгредієнта.

2. Оптимальний рівень антимікробної активності м'якої вагінальної лікарської форми забезпечує масова частка циміналю 0,15 г при середній масі супозиторіїв 3 г.

## Фінансування

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

## Відомості про авторів:

Зеленюк М. Ю., аспірант каф. технології ліків, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0009-0008-6080-2714

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

ORCID ID: 0000-0002-0853-271X

## Information about the authors:

Zeleniuk M. Yu., Postgraduate Student at the Department of Medicinal Preparations Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

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



Микола Зеленюк (Mykola Zeleniuk)  
zkolyazelenyuknz@gmail.com

## References

- McArthur M, Patel M. A pictorial review of genitourinary infections and inflammations. Clin Imaging. 2023;104:110013. doi: 10.1016/j.clinimag.2023.110013
- Van Gerwen OT, Muzny CA, Marrazzo JM. Sexually transmitted infections and female reproductive health. Nat Microbiol. 2022;7(8):1116-26. doi: 10.1038/s41564-022-01177-x
- Tuddenham S, Hamill MM, Ghanem KG. Diagnosis and Treatment of Sexually Transmitted Infections: A Review. JAMA. 2022;327(2):161-72. doi: 10.1001/jama.2021.23487
- Boddu S, Karthikeyan, Mandava K. A comprehensive review of urinary tract infections: pathophysiology, antibiotic resistance, and therapeutic strategies, with emphasis on herbal alternatives. Reviews and Research in Medical Microbiology. 2026;37(2):65-78. doi: 10.1097/mrm.0000000000000400
- Loubet P, Ranfaing J, Dinh A, Dunyach-Remy C, Bernard L, Bruyère F, et al. Alternative Therapeutic Options to Antibiotics for the Treatment of Urinary Tract Infections. Front Microbiol. 2020;11:1509. doi: 10.3389/fmicb.2020.01509
- Simoni A, Schwartz L, Junquera GY, Ching CB, Spencer JD. Current and emerging strategies to curb antibiotic-resistant urinary tract infections. Nat Rev Urol. 2024;21(12):707-22. doi: 10.1038/s41585-024-00877-9
- Zawadzka M, Laudy AE. Antiseptics: Their characteristics, application and challenges in the 21st century resulting from the spread of antimicrobial resistance (AMR). Advancements of Microbiology. 2025;64(3):112-40. doi: 10.2478/am-2025-0010
- Mahant S, Sharma AK, Gandhi H, Wadhwa R, Dua K, Kapoor DN. Emerging Trends and Potential Prospects in Vaginal Drug Delivery. Curr Drug Deliv. 2023;20(6):730-51. doi: 10.2174/1567201819666220413131243
- Kravchenko VG, Kravchenko AV. [Analysis of locally irritating action of the Cidipol drug in the form of ear drops]. Dermatovenerologhiia. Kosmetologhiia. Seksopatologhiia. 2018;(1-4):78-80. Ukrainian. Available from: <http://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4313>

10. Loban G, Kravchenko V, Ananyeva M, Kravchenko A, Faustova M. Antibacterial and anti-fungal effect of antiseptic preparation "Cidipol". Actual Problems of the Modern Medicine. 2020;20(2):145-9. Ukrainian. doi: [10.31718/2077-1096.20.2.145](https://doi.org/10.31718/2077-1096.20.2.145)
11. Kumar A, Kumar S. Intra vaginal drug delivery system (novel drug delivery system). Int j res appl sci biotechnol. 2020;7(6):234-41. doi: [10.31033/ijrasb.7.6.33](https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.6.33)
12. Kravchenko V, Kravchenko A, Yemchenko Y, Dudchenko M. [Topical antibacterial agents under conditions of antibiotic resistance of the microbiome (an analytical review of the problem and prospects for the development of new topical antibacterial (antiseptic) agents)]. Problemy ekolohii i medytsyny. 2022;26(3-4):44-50. Ukrainian. doi: [10.31718/mep.2022.26.3-4.07](https://doi.org/10.31718/mep.2022.26.3-4.07)
13. Hroshovyi TA, Martseniuk VP, Kucherenko LI, Vronska LV, Hureieva SM. Matematyчне planuvannia eksperymentu pry provedenni naukovykh doslidzhen v farmatsii. Ternopil, Ukraine: TDMU, 2008. Ukrainian.
14. Pashayan MM, Hovhannisyan HG. Development of bifunctional vaginal suppositories by joint use terconazole and probiotic for treatment and prophylaxis of vulvovaginal candidiasis. Drug Dev Ind Pharm. 2021;47(9):1424-31. doi: [10.1080/03639045.2021.2001485](https://doi.org/10.1080/03639045.2021.2001485)
15. Reynolds D, Kollef M. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections: An Update. Drugs. 2021;81(18):2117-31. doi: [10.1007/s40265-021-01635-6](https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6)
16. Faustino M, Ferreira C, Pereira AM, Carvalho AP. Candida albicans: the current status regarding vaginal infections. Appl Microbiol Biotechnol. 2025;109(1):91. doi: [10.1007/s00253-025-13478-2](https://doi.org/10.1007/s00253-025-13478-2)



## Щодо розробки сублінгвальних таблеток для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота

Л. І. Кучеренко<sup>А,Е,Ф</sup>, О. О. Чонка<sup>В,С,Д</sup>

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

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

Необхідність створення нових сублінгвальних таблеток для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота обґрунтована недостатньою кількістю вітчизняних лікарських засобів на фармацевтичному ринку. Тому актуальним завданням сучасної фармації та медицини є створення таблеток на основі тіотріазоліну та декаметоксину як потенційного нового лікарського засобу для лікування захворювань та санації ротової порожнини при таких патологічних станах, як гінгівіти та стоматити.

**Мета роботи** – розробити раціональний склад сублінгвальних таблеток, обґрунтувати вибір допоміжних речовин у їх складі та проаналізувати лікарську форму за фармако-технологічними показниками відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ).

**Матеріали і методи.** Діючі речовини – тіотріазолін та декаметоксин; допоміжні речовини (на основі мікрокристалічної целюлози, гранульованих цукрів, ковзні, змащувальні речовини та розпушувачі). Під час дослідження порошкові суміші перевіряли на насипну густину після ущільнення, текучість і кут природного укусу. Надалі спресовані серії таблеток перевірено на міцність, розпадання та стираність відповідно до вимог ДФУ.

**Результати.** У результаті досліджень встановлено, що виготовлені серії таблеток, за даними оцінювання фармакокінетичних властивостей, не мають стабільних показників, що регламентовані ДФУ. Тому здійснено аналіз закордонних і вітчизняних фахових джерел літератури щодо таблеток, що як активну діючу речовину містять декаметоксин. У процесі експериментальних досліджень розроблено новий склад таблеток на основі тіотріазоліну з декаметоксином методом прямого пресування та здійснено порівняльний аналіз їхніх фармакокінетичних властивостей.

**Висновки.** Обґрунтовано вибір допоміжних речовин, експериментально підтверджено можливість отримання таблеток методом прямого пресування та розроблено їхній оптимальний склад, що відповідає основним вимогам ДФУ.

**Ключові слова:** тіотріазолін, декаметоксин, таблетки, пряме пресування, Державна Фармакопея України, фармако-технологічні показники.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 174-178

### Regarding the development of sublingual tablets for the treatment of diseases of the oral mucosa

L. I. Kucherenko, O. O. Chonka

The need to create new sublingual tablets for the treatment of diseases of the oral mucosa is due to the insufficient number of domestic drugs on the pharmaceutical market. Therefore, the development of tablets based on thiotriazolin and decamethoxin, as a potentially new drug, for the treatment of diseases and the sanitation of the oral cavity in pathological conditions such as gingivitis, stomatitis, etc. is an urgent task for pharmacy and medicine.

**The aim of the work** is to develop a rational tablet composition, justify the choice of excipients in its composition and analyze the dosage form according to pharmaco-technological indicators in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

**Materials and methods.** Active substances – thiotriazolin and decamethoxin; excipients (based on microcrystalline cellulose, granulated sugars, glidants, lubricants and baking powders). During the study powder mixtures were tested for bulk density after compaction, fluidity and angle of natural slope. Further, the compressed series of tablets were tested for strength, disintegration and abrasion in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

**Results.** As a result of the research, we found that the manufactured series of tablets when assessing their pharmacokinetic properties do not have stable established indicators that are regulated by the State Pharmacopoeia of Ukraine. Therefore, an analysis of foreign and domestic literature sources was conducted regarding tablets containing decamethoxin as the active ingredient. Also, in the process

#### ARTICLE INFO



UDC 615.31'547.015.14:615.453.6:616.311-085].011  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.362533

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):174-178

**Keywords:** thiotriazolin, decamethoxin, tablets, direct compression, State Pharmacopoeia of Ukraine, pharmaco-technological indicators.

Received: 13.04.2026 // Revised: 08.06.2026 // Accepted: 11.06.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

of experimental research, a new composition of tablets based on thiotriazolin with decamethoxin by direct compression has already been developed and a comparative analysis of their pharmacokinetic properties has been conducted.

**Conclusions.** During the work, the choice of excipients was justified, the possibility of obtaining tablets by direct compression was experimentally confirmed, and their optimal composition was developed, which meets the basic requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

**Keywords:** thiotriazolin, decamethoxin, tablets, direct compression, State Pharmacopoeia of Ukraine, pharmaco-technological indicators.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):174-178**

В умовах безперервної активної фази бойових дій у багатьох регіонах України значна частина населення не має змоги своєчасно отримати медичну допомогу, зокрема стоматологічну. Згідно з результатами аналізу відомостей сучасної фахової літератури, найбільш поширеними патологіями в таких умовах є хронічний рецидивний афтозний стоматит, ексфолювативний хейліт, червоний плаский лишай, лейкоплакія, глосоденія та інші захворювання слизової оболонки порожнини рота [1,2,3].

Дослідження фармацевтичного ринку дали змогу встановити: багато лікарських засобів характеризуються переважно селективною дією, що обмежує їхню ефективність у комплексному лікуванні цих патологій. Тому актуальності набирає завдання зі створення нового лікарського препарату – комбінованого засобу у формі таблеток, що може забезпечити багатокомпонентну фармакологічну дію та сприяти поліпшенню якості життя пацієнтів [4,5].

Серед лікарських форм потенційно найбільш перспективною формою для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота є сублінгвальні таблетки, які чинять пряму інгібувальну дію на ріст патогенних мікроорганізмів у зоні ураження [6]. Під час створення таблетованої лікарської форми особливу увагу необхідно приділити підбору допоміжних речовин, аби лікарська форма відповідала всім чинним вимогам Державної Фармакопеї України (ДФУ). Це підтверджує актуальність теми дослідження.

## Мета роботи

Розробити раціональний склад сублінгвальних таблеток, обґрунтувати вибір допоміжних речовин у їх складі та проаналізувати лікарську форму за фармако-технологічними показниками відповідно до вимог ДФУ.

## Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на кафедрі фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету в лабораторії зі стандартизації і технології лікарських засобів. Під час роботи використано такі основні діючі речовини: тіотриазолін (ДП «Завод хімічних реактивів» НТК ІМК НАН України), м. Харків) і декаметоксин (ТОВ «ФАРМХІМ», м. Шостка). У процесі розробки технології отримання комбінованих таблеток використали сертифіковані допоміжні речовини і закордонного, й вітчизняного виробництва [7,8].

Попередньо здійснили дослідження, зокрема квантово-хімічні обчислення, що підтвердили: основні діючі

речовини (тіотриазолін і декаметоксин) можна поєднати в одній лікарській формі, оскільки вони не вступають у хімічну взаємодію [9]. Надалі дослідили форму та розміри часток методом електронної мікроскопії за допомогою комп'ютерної програми Inter Video WinDVR. Ці дані дали підстави запропонувати склад комбінованих таблеток, отриманих методом прямого пресування [10,11]. Склад і допоміжні речовини запропонованих таблеток наведено в таблиці 1.

**Таблиця 1.** Допоміжні речовини, досліджені під час розробки таблеток

Фактори	Рівні факторів
А – структуроутворювальні речовини	a <sub>1</sub> – цукрова пудра
	a <sub>2</sub> – цукор компрі О
	a <sub>3</sub> – цукор МЗ
	a <sub>4</sub> – цукор компрі МЗ
	a <sub>5</sub> – di pas di
В – розпушувачі	b <sub>1</sub> – лактоза 80
	b <sub>2</sub> – лудіпрес
	b <sub>3</sub> – лудіфлеш
	b <sub>4</sub> – sachelas 80
	b <sub>5</sub> – фловак 100
С – зв'язувальні речовини	c <sub>1</sub> – перлітол 25
	c <sub>2</sub> – перлітол 50
	c <sub>3</sub> – перлітол 200
	c <sub>4</sub> – перлітол 300
	c <sub>5</sub> – перлітол 500
D – зм'яцувальні речовини	d <sub>1</sub> – МКЦ-102
	d <sub>2</sub> – МКЦ-200
	d <sub>3</sub> – МКЦ-500
	d <sub>4</sub> – Prosolv SMCC 90
	d <sub>5</sub> – Microcellfc 10
Е – ковзні речовини	e <sub>1</sub> – магнію стеарат
	e <sub>2</sub> – кальцію стеарат
	e <sub>3</sub> – кислота стеаринова
	e <sub>4</sub> – натрій стераллфумарат
	e <sub>5</sub> – натрій лаурилсульфат

Таблиця 2. Результати планування експерименту на основі греко-латинського квадрата

№ з/п	A	B	C	D	E	y <sub>1</sub>	y <sub>1</sub> '	y <sub>2</sub>	y <sub>2</sub> '	y <sub>3</sub>	y <sub>3</sub> '	y <sub>4</sub>	y <sub>4</sub> '	y <sub>5</sub>	y <sub>5</sub> '	D	D'
1	a <sub>1</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>1</sub>	0,58	0,54	0,45	0,45	2,15	1,28	27	29	4	5	0,91	0,78
2	a <sub>1</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>5</sub>	0,69	0,71	0,80	0,81	2,3	1,67	21	28	4	4	0,81	0,81
3	a <sub>1</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>5</sub>	0,43	0,51	0,55	0,54	3,3	4,6	42	41	5	4	0,00	0,00
4	a <sub>1</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>2</sub>	0,58	0,66	0,96	0,76	5,97	5,01	50	49	4	5	0,00	0,00
5	a <sub>2</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>	e <sub>4</sub>	0,49	0,71	0,82	0,84	2,17	2,19	35	34	5	4	0,92	0,93
6	a <sub>2</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>3</sub>	0,47	0,64	0,76	0,78	2,86	5,38	48	47	5	4	0,92	0,98
7	a <sub>2</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>1</sub>	0,54	0,63	0,72	0,73	3,8	2,65	49	56	4	3	0,69	0,68
8	a <sub>2</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>1</sub>	e <sub>2</sub>	0,32	0,79	0,85	0,87	4,84	5,01	31	30	4	5	0,00	0,00
9	a <sub>3</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>2</sub>	0,54	0,65	0,80	0,79	15,98	18,02	43	32	3	3	0,65	0,65
10	a <sub>3</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>3</sub>	0,59	0,67	0,80	0,82	14,29	15,3	27	32	5	4	0,84	0,21
11	a <sub>3</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>2</sub>	0,65	0,73	0,85	0,87	1,76	1,8	33	32	5	4	0,95	0,98
12	a <sub>3</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>2</sub>	0,54	0,71	0,85	0,84	2,35	2,37	27	26	3	3	0,43	0,53
13	a <sub>4</sub>	b <sub>1</sub>	c <sub>4</sub>	d <sub>2</sub>	e <sub>3</sub>	0,53	0,73	0,8	0,82	4,84	5,01	31	30	4	4	0,82	0,83
14	a <sub>4</sub>	b <sub>2</sub>	c <sub>3</sub>	d <sub>4</sub>	d <sub>1</sub>	0,52	0,74	0,8	0,82	1,18	1,2	29	28	4	4	0,72	0,71
15	a <sub>4</sub>	b <sub>3</sub>	c <sub>2</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>1</sub>	0,54	0,71	0,85	0,84	1,45	1,47	29	30	4	4	0,00	0,00
16	a <sub>4</sub>	b <sub>4</sub>	c <sub>1</sub>	d <sub>4</sub>	e <sub>3</sub>	0,58	0,7	0,85	0,84	1,38	1,36	27	26	3	3	0,64	0,68

Беручи до уваги дані, що наведені у вітчизняних і зарубіжних наукових публікаціях щодо складу таблеток для розсмоктування [12,13], вирішено обрати таке співвідношення активних і допоміжних речовин на одну таблетку: тіотріазолін – 0,05, декаметоксин – 0,002, фактор A – 0,113, фактор B – 0,110, фактор C – 0,110, фактор D – 0,11, фактор E – 0,005. Для уникнення помилки дослідження здійснили у двох повторях.

Для вивчення якісних факторів використано один із планів дисперсійного аналізу – греко-латинський квадрат. За даними, що наведені в таблиці 2, дійшли висновку, що ці комбінації фактично не відповідають фармако-технологічним вимогам ДФУ.

На наступному етапі роботи виконано аналіз вже наявних лікарських засобів, що як діючу речовину містять декаметоксин (наприклад, «Септефрил-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма Дарниця»; «Декалор», ТОВ «Астрафарм»; «Септефрил Верде», Лозі'с Фармасьютікалс с.л.; «Септефрил», ПАТ «Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», ТОВ «Агрофарм»). Здійснили аналіз форм наведених лікарських засобів, встановлено, що як допоміжні речовини використано цукрову пудру та кальцію стеарат.

Враховуючи результати дослідження, дійшли висновку, що можна рекомендувати новий склад комбінованих таблеток, які містять декаметоксин і тіотріазолін як активні компоненти, а також цукрову пудру і кальцію стеарат як допоміжні сполуки [14,15]. Співвідношення компонентів, г: декаметоксин – 0,002, тіотріазолін – 0,05, цукрова пудра – 0,4888, кальцію стеарат – 0,005; середня вага – 0,5458.

## Результати

Під час дослідження отримано 6 лабораторних серій сублінгвальних таблеток, за складом, який наведено вище. Надалі здійснили всі необхідні фармако-технологічні випробування відповідно до вимог ДФУ.

Дослідження розпочато з оцінювання однорідності маси таблеток. Середня маса зразків, яка містили декаметоксин і тіотріазолін, становила  $0,5458 \pm 8 \%$  (від 0,51425 г до 0,54580 г). Визначено час розпадання таблеток, встановлено, що показники становили від 10 хвилин до 15 хвилин. Наступне випробування спрямоване на оцінювання стійкості таблеток до роздавлювання; результати становили від 40,6 Н до 46,9 Н.

Надалі здійснили дослідження стійкості таблеток без оболонки. Випробування виконали на приладі Pharma test. Перед початком експерименту 10 таблеток зважували, після цього поміщали у барабан на 100 обертів, а потім повторно зважували. Встановлено, що різниця між максимальними втратами маси не перевищила 1,0 %; ці результати відповідають чинним фармакопейним нормам.

Отримані результати, що повністю відповідають вимогам ДФУ, наведено в таблиці 3.

За результатами дослідження запропоновано такий склад сублінгвальної лікарської форми: декаметоксин – 0,002 г, тіотріазолін – 0,05 г, цукрова пудра – 0,495 г, кальцію стеарат – 0,005 г. Підсумовано, що таблетки, виготовлені з таким складом (6 лабораторних серій), повністю відповідають чинним вимогам ДФУ [4].

Таблиця 3. Регламентовані ДФУ показники та встановлені результати дослідження

Показник, наведений у ДФУ	Результат дослідження
Середня маса має бути не більше ніж $\pm 10$	0,5458 $\pm$ 8 % ( від 0,51425 до 0,54580)
Час розпадання сублінгвальних таблеток становить до 15 хвилин	10–15 хв
Стойкість до роздавлення при діаметрі від 11–12 становить 40–50 Н	40,6–46,9 Н
Стираність – до 1 %	Не більше ніж 1 %

## Обговорення

Аналіз результатів дослідження підтвердив, що наявні на вітчизняному ринку лікарські засоби для лікування захворювань порожнини рота здебільшого характеризуються вузькоспрямованою, селективною дією. Це дещо знижує їхню ефективність у разі комплексного впливу на патологічний процес. Особливо важливо це під час лікування поширених уражень слизової оболонки порожнини рота, як-от хронічного афтозного стоматиту та ексfolіативного хейліту.

З огляду на це обґрунтовано доцільність створення комбінованого лікарського засобу, а отримані результати дали змогу запропонувати оптимальний склад діючих і допоміжних речовин для таблеток, що забезпечують багатокомпонентну фармакологічну дію та потенційно сприяють підвищенню якості життя пацієнтів.

Впровадження в медичну та фармацевтичну практику нових комбінованих таблеток сприятиме розширенню асортименту вітчизняних лікарських засобів. Створення оригінальних комбінованих препаратів вітчизняного виробництва є доцільним і перспективним напрямом оптимізації лікування захворювань порожнини рота, оскільки на фармацевтичному ринку України досі немає комбінованих лікарських засобів цієї групи.

Результати, отримані під час наукових досліджень, доцільно використовувати на практиці – як модель для розробки інших лікарських засобів в формі таблеток для лікування різних захворювань, зокрема стоматологічних, а також для санації порожнини рота.

## Висновки

1. Обґрунтовано вибір допоміжних речовин, враховуючи їхні функціонально-технологічні характеристики та відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

2. Експериментально підтверджено можливість отримання таблеток методом прямого пресування і розроблено їхній оптимальний склад.

3. Підтверджено відповідність отриманих таблеток основним вимогам ДФУ щодо твердих лікарських форм, включаючи показники механічної міцності, однорідності маси, розпадання, стираність.

**Перспективи подальших досліджень** передбачають продовження розробки й впровадження таблеток, що містять комбінацію тіотріазоліну і декаметоксину та призначені для лікування запальних процесів ротової порожнини.

## Фінансування

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

## Відомості про авторів:

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2229-0232

Чонка О. О., аспірант каф. фармацевтичної органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6793-2668

## Information about the authors:

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

Chonka O. O., Postgraduate Student at the Department of Pharmaceutical and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.



Людмила Кучеренко (Liudmyla Kucherenko)  
liu.kucherenko@gmail.com

## References

- Kolenko Y, Synko A. [Impact of chronic oral mucosal disease on the patients' quality of life]. *Suchasna stomatolohiia*. 2023;(4):4-9. Ukrainian. doi: 10.33295/1992-576X-2023-4-4
- Plewa MC, Chatterjee K. Recurrent Aphthous Stomatitis. [Updated 2023 Nov 13]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431059/>
- Faustova MO, Chumak YV, Loban' GA, Ananieva MM, Havryliiv VM. Decamethoxin and chlorhexidine bigluconate effect on the adhesive and biofilm-forming properties of *Streptococcus mitis*. *Front Oral Health*. 2023;4:1268676. doi: 10.3389/froh.2023.1268676
- Muntian OV, Muntian VL. Analiz zakhvoriuvan slyzovoi obolonky porozhnyny rota u vnutrishno peremishchenykh osib. In: *Poltavski dni hromadskoho zdorovia*. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference [Internet]; 2024 May 31; Poltava, Ukraine; 2024 [cited 2026 May 2]. p. 259-61. Ukrainian. Available from: <https://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/24799>
- European Medicines Agency. ICH Topic Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances – Step 5 (CPMP/ICH/367/96). European Medicines Agency: European Union; 2020. 32 p.
- Hroshovyi TA, Demchuk MB, Beley NM, Nayda YV, Pavliuk BV. [Experimental design in research at the creation of tablet medicines]. *Pharmaceutical Review*. 2020;(2):101-10. Ukrainian. doi: 10.11603/2312-0967.2020.2.11204
- Babina YM, Nazarchuk OA, Dmytriiev DV, Rymsha OV, Behma MA. [Research of sensitivity of clinical strains of *S. Aureus* to decamethoxin and local anesthetics]. *Art of medicine*. 2020;3:17-22. Ukrainian. doi: 10.21802/artm.2020.3.15.17

8. Faustova MO, Chumak YV, Lokes KP, Loban' GA, Steblovskiy DV, Voloshyna LI, et al. Decamethoxine reduces the adhesive properties of streptococci isolated from patients with dry socket. *Kharkiv Dental Journal*. 2025;2(4):594-605. doi: [10.26565/3083-5607-2025-6-06](https://doi.org/10.26565/3083-5607-2025-6-06)
9. Kucherenko LI, Bielenichev IF, Chonka OO, Moriak ZB, Portna OO. Study of the antimicrobial and fungicidal activity of thiotriazoline and decamethoxinum as a potentially new model mixture for use of the oral mucosa. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2020;13(3):349-53. doi: [10.14739/2409-2932.2020.3.216197](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216197)
10. Kucherenko LI, Chonka OO, Portna OO. Development of methods for standardization of the active substance, namely the model mixture based on decamethoxine and thiotriazoline. *Zaporozhye Medical Journal*. 2021;23(5):703-7. doi: [10.14739/2310-1210.2021.5.225459](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.5.225459)
11. Kucherenko L, Chonka O, Shishkina S. Theoretical study of the possibility of decamethoxin complexes with thiotriazoline to be formed. *Sciencerise: Pharmaceutical Science*. 2021(4):37-42. doi: [10.15587/2519-4852.2021.239279](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.239279)
12. Benzian H, Beltrán-Aguilar E. The return of oral health to global health is significant for public health everywhere. *J Public Health Dent*. 2021;81(2):87-9. doi: [10.1111/jphd.12457](https://doi.org/10.1111/jphd.12457)
13. Skrypnikov PM, Skrypnikova TP, Lupatsa NA, Raskolupa NV, Ostrovska GY, Titarenko VI, et al. [Oral health status of internally displaced persons]. *Ukrainian Dental Almanac*. 2023;(1):12-6. Ukrainian. doi: [10.31718/2409-0255.1.2023.02](https://doi.org/10.31718/2409-0255.1.2023.02)
14. Vo T, Chu PM, Tuan VP, Te JS, Lee IT. The Promising Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Periodontal Disease via the Inhibition of Oxidative Stress Pathways: Updated Insights. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(12):1211. doi: [10.3390/antiox9121211](https://doi.org/10.3390/antiox9121211)
15. Bielenichev IF, Vizir VA, Mamchur VY, Kuriata OV. [Place of thiotriazoline in the gallery of modern metabolotropic medicines]. *Zaporozhye Medical Journal*. 2019;21(1):118-28. doi: [10.14739/2310-1210.2019.1.155856](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856)



# Оцінювання біосумісності зволожувальних офтальмологічних засобів у контексті їхніх фізико-хімічних характеристик

Л. М. Іванець<sup>1</sup> A,B,D,F, М. В. Власюк<sup>1</sup> C,E

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

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

Проаналізовано вплив ключових фізико-хімічних властивостей зволожувальних очних крапель (в'язкості, рН і поверхневого натягу) на їхню біосумісність із тканинами очної поверхні. Обґрунтовано необхідність чіткої кореляції між кількісними характеристиками препаратів і фізіологічними показниками слізної рідини для забезпечення тривалого терапевтичного ефекту при синдромі сухого ока. Результати мають прикладне значення для вдосконалення технологій виробництва та підвищення якості сучасних офтальмологічних засобів.

**Мета роботи** – оцінити вплив фізико-хімічних властивостей зволожувальних очних крапель на біосумісність і толерантність до очної поверхні.

**Матеріали і методи.** Для дослідження використано зразки зволожувальних очних крапель: «Оптінол 0,4 %», «Артеар», «Віаль Сльоза», «Артелак Гіпромелоза» та «Офтолік Ультра». Густина та рН визначали за методиками Державної Фармакопеї України, поверхневий натяг вимірювали сталагмометричним методом, в'язкість – методом капілярної віскозиметрії. Вимірювання здійснювали при фізіологічній температурі 35 °С. Результати дослідження проаналізували з використанням статистичних методів.

**Результати.** Біорелевантним критеріям оптимально відповідають фізико-хімічні показники зволожувальних очних крапель «Оптінол 0,4 %» і «Артелак Гіпромелоза». «Артелак Гіпромелоза» – єдиний зразок, чий поверхневий натяг у чистому вигляді та при модельному розведенні відповідає фізіологічній нормі, забезпечуючи оптимальне розтікання. Інші препарати при розведенні суттєво втрачали поверхню активності, проте «Офтолік Ультра» та «Оптінол 0,4 %» характеризувалися найбільш стабільною та комфортною в'язкістю.

**Висновки.** Здійснили порівняльний аналіз фізико-хімічних властивостей (густина, рН, поверхневий натяг і в'язкість) п'яти зразків очних зволожувальних крапель із різною хімічною природою активних компонентів. Встановлено, що за комплексом біорелевантних критеріїв найбільш наближеними до фізіологічної норми є показники препаратів «Оптінол 0,4 %» та «Артелак Гіпромелоза». Доведено, що сталагмометричні та віскозиметричні методи є ефективними інструментами для експрес-контролю якості та прогнозування біосумісності рідких офтальмологічних засобів.

**Ключові слова:** синдром сухого ока, зволожувальні очні краплі, фізико-хімічні властивості, поверхневий натяг, в'язкість, біосумісність.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 179-183

## Biocompatibility assessment of lubricating ophthalmic agents in the context of their physicochemical characteristics

L. M. Ivanets, M. V. Vlasjuk

The paper analyzes the impact of key physicochemical properties of lubricating eye drops (viscosity, pH, and surface tension) on their biocompatibility with ocular surface tissues. The necessity of a strict correlation between the quantitative characteristics of the preparations and the physiological parameters of the tear fluid is substantiated to ensure a long-term therapeutic effect in dry eye syndrome. The results obtained are of practical importance for improving production technologies and enhancing the quality of modern ophthalmic agents.

**The aim of this study** was to evaluate the impact of the physicochemical properties of lubricating eye drops on their biocompatibility and ocular surface tolerance.

**Materials and methods.** The study involved samples of lubricating eye drops: "Optinol 0.4 %", "Aritear", "Vial Sleza", "Artelac Hypromellose", and "Oftolik Ultra". Density and pH were determined according to the methods of the State Pharmacopoeia of Ukraine. Surface tension was measured using the stalagmometric method and viscosity was determined by capillary viscometry. All measurements were performed at a physiological temperature of 35 °C. Statistical analysis of the results was carried out using standard statistical methods.

### ARTICLE INFO



UDC 615.457.011:544.7

DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.353713](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.353713)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):179-183

**Keywords:** dry eye syndrome, lubricating eye drops, physicochemical properties, surface tension, viscosity, biocompatibility.

Received: 10.03.2026 // Revised: 28.04.2026 // Accepted: 08.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Results.** The physicochemical parameters of the lubricating eye drops "Optinol 0.4 %" and "Artelac Hypromellose" were found to optimally meet biorelevant criteria. Artelac Hypromellose was the only sample whose surface tension, both in pure form and upon model dilution, corresponds to the physiological norm, ensuring optimal spreading. While other preparations significantly lost their surface activity upon dilution, "Oftolik Ultra" and "Optinol 0.4 %" demonstrated the most stable and comfortable viscosity.

**Conclusions.** A comparative analysis of the physicochemical properties (density, pH, surface tension, and viscosity) of five lubricating eye drop samples with different chemical natures of their active components was conducted. It was established that according to the complex of biorelevant criteria, the parameters of "Optinol 0.4 %" and "Artelac Hypromellose" are the closest to the physiological norm. It has been proven that stalagmometric and viscometric methods are effective tools for rapid quality control and predicting the biocompatibility of liquid ophthalmic agents.

**Keywords:** dry eye syndrome, lubricating eye drops, physicochemical properties, surface tension, viscosity, biocompatibility.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):179-183**

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, порушення зору різного генезу мають понад 300 млн людей у світі. Стрімке зростання захворюваності безпосередньо пов'язане з науково-технічним прогресом та зміною способу життя: тривалою роботою за моніторами (комп'ютерний зоровий синдром), широким використанням гаджетів, впливом кондиціонованого повітря й агресивних чинників довкілля. Однією з найпоширеніших офтальмопатологій є синдром сухого ока [1].

Синдром сухого ока – багатофакторне захворювання поверхні ока, що характеризується втратою гомеостазу слізної плівки. Етіологічними чинниками патології є або недостатня секреція слезової рідини, або її надмірне випаровування внаслідок деструкції ліпідного шару. Клінічно це виявляють за відчуттям дискомфорту, стороннього тіла в оці та зниженням гостроти зору, що суттєво погіршує якість життя пацієнтів. Якщо не буде призначено своєчасну й адекватну терапію, можуть виникнути тяжкі ксеротичні зміни аж до незворотної втрати зорових функцій [2].

За даними сучасної фахової літератури, застосування препаратів штучної слези залишається оптимальним і найбільш ефективним методом корекції синдрому сухого ока будь-якого генезу. Такі засоби імітують властивості натуральної слези, сприяючи відновленню гідродинаміки та захисних властивостей слізної плівки.

Сучасний фармацевтичний ринок пропонує широкий спектр офтальмологічних розчинів, які відрізняються за хімічною природою активних компонентів та рівнем в'язкості. Проте ефективність і безпека зволожувальних крапель залежать не лише від складу діючих речовин, але й від їхніх фізико-хімічних характеристик, як-от рН, поверхневого натягу та в'язкості [3]. Саме ці параметри визначають здатність препарату рівномірно розподілятися по рогівці (розтікання), тривалість його утримання на очній поверхні та загальну біосумісність.

Отже, детальне вивчення і порівняльний аналіз фізико-хімічних властивостей сучасних засобів – штучних сліз є актуальним завданням.

## Мета роботи

Оцінити вплив фізико-хімічних властивостей зволожувальних очних крапель на біосумісність і толерантність до очної поверхні.

## Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – офтальмологічні розчини з ідентичним або зіставним вмістом активних компонентів. Зокрема проаналізували такі зволожувальні очні краплі: «Оптінол 0,4 %» (Jadran – Galenski Laboratorij d.d, Хорватія), «Арітеар» (Aristopharma Ltd., Бангладеш), «Віаль Сльоза» (Фармак, АТ, Україна), «Артелак Гіпромелоза» (Др. Герхард Манн Хем.-фарм. Фабрик ГмбХ, Німеччина) і «Офтолік Ультра» (Фарміджеа С.П.А., Італія). Усі флакони мають вбудований крапельний пристрій і містять по 10 мл офтальмологічних розчинів.

Перед виконанням вимірювань усі зразки офтальмологічних розчинів витримували на водяній бані за температури 35 °С (температура поверхні рогівки ока) протягом 30 хвилин. Густина очних крапель визначали за допомогою пікнометра згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ). рН вимірювали потенціометричним методом відповідно до загальної статті ДФУ за допомогою рН-метра 150МИ з похибкою вимірювань  $\pm 0,01$  [4].

Поверхневий натяг очних крапель визначали за допомогою скляного сталагмометра Траубе прямого типу (об'єм резервуара – 2,5 мл) методом Харкінсона, що ґрунтується на обрахунку крапель, які відриваються від капіляра сталагмометра під дією сили тяжіння. У момент відриву вага краплі дорівнює силі поверхневого натягу рідини. Визначення в'язкості очних крапель здійснювали віскозиметричним методом із використанням скляного капілярного віскозиметра Оствальда ВПЖ-2 [4].

Вимірювання здійснили тричі, результати наведено як середнє значення окремих вимірювань із відповідним стандартним відхиленням. Для систематизації та опрацювання даних використано Microsoft Excel.

## Результати

Результати оцінювання фізико-хімічних параметрів зволожувальних очних крапель при 35 °С наведено в таблиці 1.

Для імітації фізіологічного розведення в кон'юнктивальному мішку, що відбувається миттєво після інстиляції та моргання, під час дослідження застосовано модельні системи зі зразків, які вивчали, розведених у пропорції 80:20. Згідно з усталеною практикою вивчення офтальмологічних засобів, випробування здійснили на

Таблиця 1. Фізико-хімічні властивості зразків зволожувальних очних крапель при 35 °С

Назва зразка	Густина ( $\rho$ ), г/см <sup>3</sup>	pH	Динамічна в'язкість ( $\eta$ ), мПа × с	Поверхневий натяг ( $\sigma$ ), мН/м
«Оптінол 0,4 %»	1,029 ± 0,002	7,37 ± 0,02	9,69 ± 0,15	52,38 ± 0,45
«Арітеар»	1,010 ± 0,001	8,06 ± 0,03	2,01 ± 0,05	65,75 ± 0,52
«Віаль Сльоза»	1,052 ± 0,003	7,67 ± 0,02	1,38 ± 0,02	65,68 ± 0,61
«Артелак Гіпромелоза»	1,041 ± 0,002	7,56 ± 0,02	4,31 ± 0,08	39,32 ± 0,38
«Офтолік Ультра»	1,014 ± 0,002	7,49 ± 0,04	20,80 ± 0,32	52,58 ± 0,48
Цільовий діапазон для очних крапель	–	5,8–8,5	5–15	35–46

Таблиця 2. Фізико-хімічні властивості зразків зволожувальних очних крапель у розведенні 80 % при 35 °С

Назва зразка	pH	Динамічна в'язкість ( $\eta$ ), мПа × с	Поверхневий натяг ( $\sigma$ ), мН/м
«Оптінол 0,4 %»	7,50 ± 0,02	5,66 ± 0,14	60,05 ± 0,55
«Арітеар»	8,17 ± 0,04	1,27 ± 0,05	67,25 ± 0,68
«Віаль Сльоза»	7,71 ± 0,03	1,03 ± 0,04	69,18 ± 0,72
«Артелак Гіпромелоза»	7,55 ± 0,03	2,95 ± 0,08	47,29 ± 0,44
«Офтолік Ультра»	7,58 ± 0,02	11,08 ± 0,25	60,17 ± 0,58
Прийнятні межі	5,8–9,0	5–15	35–50

суміші препарату та штучної сльози у пропорції 80:20 [5,6,7]. Фізико-хімічні властивості зразків зволожувальних очних крапель у розведенні 80 % (модельований стан *in situ*) при 35 °С наведено в таблиці 2.

## Обговорення

Початкову толерантність під час інстиляції препаратів визначає їхній вихідний фізико-хімічний профіль. Оптиміальний терапевтичний ефект і комфорт пацієнта досягаються за умови відповідності показників pH, в'язкості та поверхневого натягу препарату вузькому фізіологічному діапазону, що забезпечує стабільність прекорнеальної слізної плівки [8,9].

Аналіз фізико-хімічних властивостей досліджених оригінальних засобів (табл. 1) дав змогу встановити, що не всі зразки повною мірою відповідають встановленим критеріям комфорту, особливо за параметрами реологічного профілю. Так, значення pH усіх проаналізованих препаратів відповідали межам фізіологічної норми, що мінімізує ризик виникнення рефлекторної сльозотечі та подразнення слизової оболонки ока при інстиляції.

Динамічна в'язкість людської сльози в нормі низька та становить 1,3–5,9 мПа × с [10,11]. Для пролонгування дії препарату в місці застосування рекомендована в'язкість очних крапель має бути не нижчою за ці значення і становити приблизно 15 мПа × с для синдрому сухого ока середнього ступеня тяжкості [12].

Умові забезпечення тривалого утримання препарату без погіршення зорових функцій відповідає препарат з оптимальним значенням в'язкості – «Оптінол 0,4 %». В'язкість «Артелак Гіпромелози» відповідає нижній межі норми. Препарати, в'язкість яких менша за 5 мПа × с,

занадто швидко вимиваються з роگیвки («Арітеар» і «Віаль Сльоза»). В'язкість «Офтолік Ультра» перевищує верхню межу рекомендованого діапазону. Пацієнт може відчувати зниження чіткості зору, яке не зникає протягом кількох хвилин після інстиляції крапель. Занадто в'язка рідина викликає відчуття стороннього тіла в оці, спричиняючи дискомфорт.

Важливим критерієм біосумісності офтальмологічних засобів є їхня здатність до розтікання по поверхні роگیвки, що безпосередньо залежить від величини поверхневого натягу. Нормальне значення поверхневого натягу людської сльози становить 40–46 мН/м (при синдромі сухого ока – 50 мН/м) [13,14]. Поверхневий натяг очних крапель має бути дещо нижчим за фізіологічний показник сльози, проте офтальмологічні препарати з поверхневим натягом менше ніж 35 мН/м викликають в очах відчуття болю та дискомфорту [15].

За результатами аналізу характеристик поверхневого натягу, для зразків «Арітеар» і «Віаль Сльоза» ці показники суттєво перевищують межі встановленого референтного діапазону. Високий поверхневий натяг перешкоджає розтіканню очних крапель по роگیвці ока. Показники поверхневого натягу препаратів «Оптінол 0,4 %» та «Офтолік Ультра» характеризувалися помірним перевищенням верхньої межі біоревалентності. Зразок «Артелак Гіпромелоза» мав найвищу поверхневу активність, що є оптимальним для швидкого формування захисного шару.

Отже, за сукупністю фізико-хімічних характеристик жоден із досліджених зразків не характеризувався їх оптимальним поєднанням. Втім, важливе значення має не лише початкова відповідність препарату фізіологічним нормам, але й збереження його функціональних властивостей після змішування з нативною сльозозою.

Моделювання фізіологічного розведення не чинило суттєвого впливу на рівень рН досліджених очних крапель (табл. 2). Це підтверджує надійність використаних допоміжних речовин – буферних компонентів. Встановлено, що три зразки очних крапель не відповідали референтним вимогам щодо в'язкості, оскільки встановлено значення, що не досягають нижньої межі фізіологічної норми. Це є основним недоліком препаратів для лікування синдрому сухого ока: короткий час утримання препаратів в оці і, відповідно, короткочасний ефект усунення симптомів.

Показники в'язкості препаратів «Оптінол 0,4 %» та «Офтолік Ультра» повною мірою відповідають встановленому референтному діапазону, що сприяє досягненню тривалого терапевтичного ефекту.

Сучасним підходом в офтальмології є підвищення біодоступності шляхом застосування мукоадгезивних систем доставки, де мукоадгезію визначають як нековалентну взаємодію полімеру з муциновим шаром слізної плівки. Відомо, що гіалуронова кислота та її натрієва сіль (діюча речовина «Оптінолу 0,4 %») мають виражені мукоадгезивні властивості та в'язко-пружні ефекти. Такі характеристики полімерів забезпечують тривалішу ретенцію розчину на поверхні ока, мінімізують втрати через назолакримальний дренаж і сприяють кращій місцевій активності компонентів [16]. Поєднання натрію гіалуронату з TS-полісахаридом [17] у складі препарату «Офтолік Ультра» забезпечує синергічну дію на епітелій рогівки, зокрема сприяє міграції клітин епітелію, усуває нерівності очної поверхні.

Висока в'язкість препарату сама по собі не є гарантією тривалого утримання розчину на очній поверхні. Ефективність дії засобів групи штучної слюзи істотно залежить від їхньої здатності до змочування, що визначається низьким показником поверхневого натягу. Саме оптимальні параметри поверхневої активності сприяють рівномірному розподілу крапель по рогівці та стабілізації прекоorneальної слізної плівки, що в поєднанні з реологічними властивостями пролонгує терапевтичний ефект.

При фізіологічному розведенні показники поверхневого натягу зразків «Артеар» і «Віаль Сльоза» значно зростають, перевищуючи верхню межу референтного діапазону. Концентрація поверхнево-активних речовин у розчинах знижується, і показник поверхневого натягу зростає, наближаючись до значення чистої води. Це може призводити до погіршення змочуваності епітелію рогівки. Оптимальний профіль поверхневого натягу навіть після розведення зберіг препарат «Артелак Гіпромелоза» (верхня межа) попри те, що його в'язкість *in situ* виявилася дещо нижчою за норму.

Зауважимо, що натрію гіалуронат (активний компонент «Оптінолу 0,4 %» і «Офтоліку Ультра»), будучи ефективним зволожувачем, поступається гіпромелозі за рівнем поверхневої активності. Саме тому введення гіпромелози до складу офтальмологічних засобів як допоміжного сурфактанту є обґрунтованим рішенням для досягнення оптимального розподілу препарату по очній поверхні. Висока поверхнева активність гіпромелози забезпечує мінімальний крайовий кут змочування, що дає змогу

розчину швидко розподілятися по гідрофобному епітелію рогівки. Цей процес супроводжується позитивним ефектом Марангоні: внаслідок градієнта поверхневого натягу рідина очних крапель спрямовується з ділянки низького поверхневого натягу в ділянку високого [18]. Така спрямована дифузія сприяє рівномірному розподілу лікарської речовини та запобігає утворенню так званих сухих плям на рогівці.

Отже, «Артелак Гіпромелоза» – єдиний зразок, чий поверхневий натяг і в нативному (39,32 мН/м), і в розведеному (47,29 мН/м) стані повністю відповідає фізіологічній нормі, що гарантує ідеальне розтікання по рогівці. Проте такий низький поверхневий натяг не є однозначною перевагою, оскільки може скорочувати тривалість стабільності слізної плівки. Натомість при модельному розведенні значення поверхневого натягу інших препаратів зростає до 60,0–69,0 мН/м, що суттєво знижує їхню поверхневу активність. Водночас зразки «Офтолік Ультра» та «Оптінол 0,4 %» навіть після розведення зберегли показники в'язкості в межах терапевтичного діапазону 5,0–15,0 мПа × с, що є критично важливим для пролонгації дії.

Результати дослідження підтвердили, що сталагмометричний метод є інформативним і доступним інструментом для експрес-контролю якості. Вибір методу сталагмометрії Траубе обґрунтований його точністю під час кількісного аналізу розчинів поверхнево-активних речовин. На відміну від статичних методів (кільця Дю Нуї чи пластини Вільгельмі), які часто дають похибку на в'язких розчинах, сталагмометрія враховує не лише термодинамічні параметри, але й кінетику формування краплі [19,20]. Цей метод забезпечує високу відтворюваність результатів і можливість оперативного контролю параметрів безпосередньо в умовах виробничого циклу або експрес-аналізу в лабораторії, що підтверджено класичними методичними рекомендаціями [21,22].

Використання сталагмометра Траубе дало змогу досягти високої точності вимірювань за умови економічної доступності обладнання [23] Окремою перевагою обраного методу сталагмометрії є його відповідність способу застосування досліджених препаратів.

Отже, застосування віскозиметрії та сталагмометрії дає змогу прогнозувати біосумісність і клінічну ефективність рідких офтальмологічних засобів ще на етапі лабораторних досліджень.

## Висновки

1. Усі досліджені офтальмологічні засоби мають стабільний показник рН, який не змінюється при фізіологічному розведенні.

2. За реологічними властивостями найбільш наближеними до цільових значень є препарати «Оптінол 0,4 %» та «Офтолік Ультра».

3. Зразок «Артелак Гіпромелоза» характеризувався найвищою здатністю до розтікання, хоча низький показник поверхневого натягу може обмежувати тривалість стабілізації прекоorneальної плівки.

**Фінансування**

Дослідження здійснено без фінансової підтримки.

**Подяки**

Для покращення читабельності та лінгвістичної якості тексту частково використовували інструменти штучного інтелекту.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

**Відомості про авторів:**

Іванець Л. М., канд. хім. наук, доцент каф. загальної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: [0000-0003-1377-8025](https://orcid.org/0000-0003-1377-8025)

Власюк М. В., здобувачка вищої освіти, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

ORCID ID: [0009-0009-4446-8071](https://orcid.org/0009-0009-4446-8071)

**Information about the authors:**

Ivanets L. M., PhD, Associate Professor of Department of General Chemistry, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Vlasyuk M. V., Student, Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.



Людмила Іванець (Liudmyla Ivanets)  
[ivanec@tdmu.edu.ua](mailto:ivanec@tdmu.edu.ua)

**References**

- Rolando M, Merayo-Llodes J. Management Strategies for Evaporative Dry Eye Disease and Future Perspective. *Curr Eye Res.* 2022;47(6):813-23. doi: [10.1080/02713683.2022.2039205](https://doi.org/10.1080/02713683.2022.2039205)
- Jones L, Craig JP, Markoulli M, Karpecki P, Akpek EK, Basu S, et al. TFOS DEWS III: Management and Therapy. *Am J Ophthalmol.* 2025;279:289-386. doi: [10.1016/j.ajo.2025.05.039](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2025.05.039)
- Syndrom sukhooho oka. Klinichna nastanova, zasnovana na dokazah [Dry eye syndrome. Evidence-based clinical practice]. 2019. Ukrainian. Available from: <http://mtd.dec.gov.ua/index.php/uk/haluzevi-standarty-ta-klinichni-nas-tanovy/item/421-syndrom-sukhooho-oka>
- 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.
- Andreadis II, Karavasili C, Thomas A, Komnenou A, Tzimtzimis M, Tzetzis D, et al. In Situ Gelling Electrospun Ocular Films Sustain the Intraocular Pressure-Lowering Effect of Timolol Maleate: In Vitro, Ex Vivo, and Pharmacodynamic Assessment. *Mol Pharm.* 2022;19(1):274-86. doi: [10.1021/acs.molpharmaceut.1c00766](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00766)
- Montmeat D, Thouvenin A, Rasamison R, Boudy V. Physicochemical Properties and Rheological Behavior of Artificial Tears for Dry Eye Syndrome. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2025;41(10):604-10. doi: [10.1177/10807683251364169](https://doi.org/10.1177/10807683251364169)
- Račić A, Krstonošić V, Micov A, Pecikoza U, Dobričić V, Turković E, et al. Stability and Efficacy of Mucoadhesive Eye Drops Containing Opatadine HCl: Physicochemical, Functional, and Preclinical In Vivo Assessment. *Pharmaceutics.* 2025;17(4):517. doi: [10.3390/pharmaceutics17040517](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17040517)
- Bhawale R, Srivastava V, Mehra NK. Advances in ophthalmic formulation development. In: Jain K, Yadav AK, editors. *Advances in Pharmaceutical Product Development.* Singapore: Springer Nature Singapore; 2025. p. 289-319. Available from: [10.1007/978-981-97-9230-6\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-97-9230-6_12)
- Thacker M, Singh V, Basu S, Singh S. Biomaterials for dry eye disease treatment: Current overview and future perspectives. *Exp Eye Res.* 2023;226:109339. doi: [10.1016/j.exer.2022.109339](https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109339)
- Vega JF, Fernández M, Cardil A, Calafel I, Martínez-Soroa I, Sarriegui AP, et al. Shedding light on the viscoelastic behavior of artificial and human tears: A microrheological approach. *Phys Fluids.* 2023;35(7). doi: [10.1063/5.0152482](https://doi.org/10.1063/5.0152482)
- Muñoz G, Millicovsky M, Cerrudo J, Peñalva A, Machtey M, Reta J, et al. Exploring tear viscosity with quartz crystal microbalance technology. *Rev Sci Instrum.* 2024;95(7):075107. doi: [10.1063/5.0207182](https://doi.org/10.1063/5.0207182)
- Blasco-Martinez A, Mateo-Orobia A, Blasco-Alberto J, Pablo-Julvez L. Rheological Behavior Patterns in Artificial Tears. *Optom Vis Sci.* 2022 May 1;99(5):455-62. doi: [10.1097/OPX.0000000000001885](https://doi.org/10.1097/OPX.0000000000001885)
- Tiffany JM, Winter N, Bliss G. Tear film stability and tear surface tension. *Curr Eye Res.* 1989;8(5):507-15. doi: [10.3109/02713688909000031](https://doi.org/10.3109/02713688909000031)
- Nagyová B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res.* 1999;19(1):4-11. doi: [10.1076/ceyr.19.1.4.5341](https://doi.org/10.1076/ceyr.19.1.4.5341)
- Hotujac Grgurević M, Juretić M, Hafner A, Lovrić J, Pepić I. Tear fluid-eye drops compatibility assessment using surface tension. *Drug Dev Ind Pharm.* 2017;43(2):275-82. doi: [10.1080/03639045.2016.1238924](https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1238924)
- Račić A, Krajišnik D. Biopolymers in Mucoadhesive Eye Drops for Treatment of Dry Eye and Allergic Conditions: Application and Perspectives. *Pharmaceutics.* 2023;15(2):470. doi: [10.3390/pharmaceutics15020470](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020470)
- Ziliani S, Alekseeva A, Antonini C, Esposito E, Neggiani F, Sansò M, et al. Synthesis and Physicochemical Properties of Sulphated Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Seed Polysaccharide. *Molecules.* 2024;29(23):5510. doi: [10.3390/molecules29235510](https://doi.org/10.3390/molecules29235510)
- Taranchuk MJ. Nematic Liquid Crystal Models for the Lipid Layer of the Human Tear Film. PhD thesis. University of Delaware; 2024.
- Miller R, Fainerman V. The drop volume technique. In: *Studies in Interface Science.* Elsevier; 1998. p. 139-86. Available from: [10.1016/S1383-7303\(98\)80020-3](https://doi.org/10.1016/S1383-7303(98)80020-3)
- Mohamadkhani A. Methods of surface tension measurements. *Academia.edu.* 2014. Available from: [https://www.academia.edu/11419575/2\\_Methods\\_of\\_surface\\_tension\\_measurements](https://www.academia.edu/11419575/2_Methods_of_surface_tension_measurements)
- Pierson FW, Whitaker S. Studies of the drop-weight method for surfactant solutions. *J Colloid Interface Sci.* 1976;54(2):219-30. doi: [10.1016/0021-9797\(76\)90302-7](https://doi.org/10.1016/0021-9797(76)90302-7)
- Kloubek J. Measurement of the dynamic surface tension by the drop weighing method. *Colloid and Polymer Sci.* 1975;253:929-36. doi: [10.1007/BF01421443](https://doi.org/10.1007/BF01421443)
- Ramasami P, Rughooputh S. Accurate determination of surface tension using a Traube Stalagmometer and a low cost experimental design. *University of Mauritius Research Journal.* 2005;11:1-12. Available from: <https://www.uom.ac.mu/researchjournal/index.php/research/article/view/215>



# Modern approaches to the synthesis and biological screening of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives (literature review)

V. V. Kalchenko<sup>1B,C,D</sup>, R. O. Shcherbyna<sup>1A,E,F</sup>

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

**Aim.** To systematize and critically analyze current scientific publications on the synthesis and biological screening of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives and to summarize the relationship between their structure and pharmacological activity. Special attention was paid to the prospects of using these compounds as scaffolds for the development of new biologically active substances and potential active pharmaceutical ingredients.

**Materials and methods.** The review included publications by domestic and foreign authors devoted to methods for the synthesis, chemical modification, and biological evaluation of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. Literature retrieval was carried out in the Scopus, Web of Science, PubMed, and Google Scholar databases using Ukrainian- and English-language keywords related to 1,2,4-triazoles, triazole-3-thiols, synthesis, and biological activity. The selected sources were analyzed by systematization, comparative assessment, and generalization of data on synthetic approaches, thiol-group transformations, directions of structural modification, and the results of pharmacological screening.

**Results.** The analysis showed that 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives represent an important class of heterocyclic compounds with broad possibilities for purposeful structural modification and a wide spectrum of biological effects. Their synthesis is most often based on cyclization reactions involving thiosemicarbazides, hydrazides, isothiocyanates, and related intermediates, whereas the efficiency of the process depends on solvent, temperature, catalyst, and the nature of substituents. The summarized literature indicates that these compounds may exhibit antimicrobial, antifungal, antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, anticonvulsant, and antitumor activity, while the thiol group plays a decisive role in further S-functionalization and in shaping physicochemical and pharmacological properties.

**Conclusions.** 1,2,4-Triazole-3-thiol derivatives are a promising platform for medicinal chemistry because their reactivity allows targeted modification and the reported biological screening results confirm the expediency of further search for new low-toxicity and pharmacologically promising compounds in this series.

**Keywords:** 1,2,4-triazole-3-thiol, triazole derivatives, synthesis, biological screening, pharmacological activity, structure – activity relationship.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.** 2026;19(2):184-194

## Сучасні підходи до синтезу та біологічного скринінгу похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу (огляд літератури)

В. В. Кальченко, Р. О. Щербина

**Мета роботи** – систематизувати та критично проаналізувати сучасні наукові публікації, присвячені синтезу та біологічному скринінгу похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу, а також узагальнити відомості про взаємозв'язок між їхньою будовою та фармакологічною активністю. Особливу увагу приділено оцінюванню перспектив використання цих сполук як молекулярних платформ для створення нових біологічно активних речовин і потенційних активних фармацевтичних інгредієнтів.

**Матеріали і методи.** До огляду включено публікації вітчизняних і зарубіжних авторів, присвячені методам синтезу, хімічній модифікації та біологічному оцінюванню похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу. Пошук літератури здійснювали в базах даних Scopus, Web of Science, PubMed і Google Scholar. Використовували україномовні та англomовні ключові слова, пов'язані з 1,2,4-тріазолами, тріазол-3-тіолами, синтезом і біологічною активністю. Відібрані джерела проаналізовано методами систематизації, порівняльного оцінювання й узагальнення даних щодо синтетичних підходів, перетворень за участю тіольної групи, напрямів структурної модифікації та результатів фармакологічного скринінгу.

**Результати.** Аналіз даних фахової літератури засвідчив, що похідні 1,2,4-тріазол-3-тіолу є важливим класом гетероциклічних сполук із можливостями цілеспрямованої структурної модифікації та широким спектром біологічної дії. Їхній синтез найчастіше ґрунтується на реакціях циклізації за участю тіосемікарбазидів, гідразидів, ізотіоціанатів і споріднених проміжних сполук. Ефективність процесу залежить від природи розчинника, температури, каталізатора й характеру замісників.

### ARTICLE INFO

UDC 547.792.057+615.31'792.076

DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.357016

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.** 2026;19(2):184-194

**Keywords:** 1,2,4-triazole-3-thiol, triazole derivatives, synthesis, biological screening, pharmacological activity, structure – activity relationship.

Received: 09.03.2026 // Revised: 30.04.2026 // Accepted: 06.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Висновки.** Узагальнені дані свідчать, що такі сполуки можуть мати антимікробну, протигрибкову, протівірусну, антиоксидантну, протизапальну, протисудомну та протипухлинну активність, а тільнона група відіграє визначальну роль для наступної S-функціоналізації, формування фізико-хімічних і фармакологічних властивостей. Похідні 1,2,4-тріазол-3-тіолу є перспективною платформою для медичної та фармацевтичної хімії, оскільки їхня реакційна здатність забезпечує можливість цілеспрямованої модифікації, а результати біологічного скринінгу підтверджують доцільність подальшого пошуку нових малотоксичних і фармакологічно перспективних сполук цього ряду.

**Ключові слова:** 1,2,4-тріазол-3-тіол, похідні тріазолу, синтез, біологічний скринінг, фармакологічна активність, структура – активність.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 184-194

According to current scientific research, the rapid development of medical and pharmaceutical science has significantly contributed to the improvement of both the quality and duration of human life. A major role in this process has been played by advances in organic and medicinal chemistry, which have enabled the identification of active components in drugs, as well as the design and implementation of synthetic compounds with predictable biological properties. Further progress in medicinal chemistry has focused on the targeted modification of already known biologically active molecules to enhance their efficacy and safety.

Despite considerable scientific achievements, the search for new highly effective and low-toxicity biologically active compounds remains relevant. This is due to the fact that a significant number of drugs currently used for the prevention and treatment of various diseases exhibit insufficient therapeutic effectiveness or are associated with undesirable side effects.

Consequently, heterocyclic compounds, particularly 1,2,4-triazole derivatives, have attracted special attention from researchers, as they demonstrate a broad spectrum of biological activity and substantial potential for further chemical modification.

## Aim

To systematize and critically analyze current scientific publications on the synthesis and biological screening of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives and to summarize the relationship between their structure and pharmacological activity. Special attention was paid to the prospects of using these compounds as scaffolds for the development of new biologically active substances and potential active pharmaceutical ingredients.

## Materials and methods

The materials for this review included scientific publications by domestic and international authors dedicated to the synthesis and study of the biological activity of 1,2,4-triazole derivatives, in particular 1,2,4-triazole-3-thiols. The analysis was based on articles from peer-reviewed scientific journals, monographs, and review papers published in open scientific databases. During the study, methods of systematic analysis, generalization, and comparative evaluation of the literature data were applied.

Special attention was given to modern approaches for the synthesis of 1,2,4-triazole derivatives, features of their chemical modification, and results of biological screening, allowing assessment of the relationship between compound structure and pharmacological activity.

## Results

Analysis of current scientific sources has shown that 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives constitute an important class of heterocyclic compounds with broad possibilities for structural modification and significant biological potential. The generalization of literature data made it possible to identify the main synthetic approaches, features of their chemical behavior, and key directions for research into their pharmacological properties.

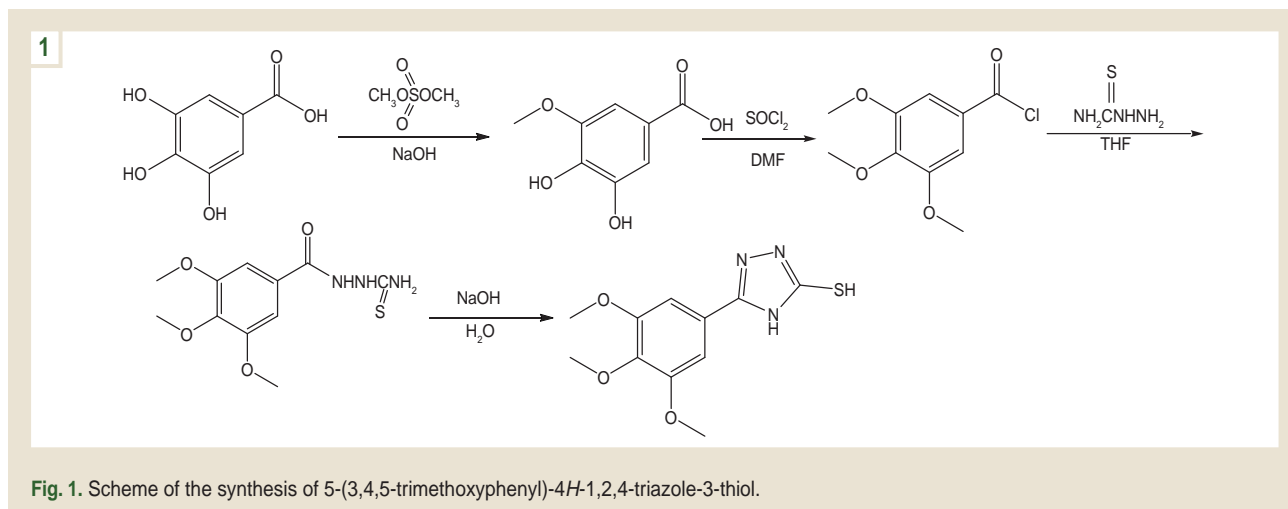
It has been established that the synthesis of these compounds is most often based on cyclization reactions involving thiosemicarbazides, hydrazides, and related reagents. The efficiency of the synthesis largely depends on the reaction conditions, including the nature of the solvent, temperature, and catalysts. It was found that no universal synthetic method exists, and optimal conditions require individual selection depending on the structure of the starting components.

It has been shown that the reactivity of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives is primarily determined by the presence of the thiol group, which readily participates in nucleophilic substitution reactions. In most cases, modification occurs at the sulfur atom, leading to the formation of S-substituted products, whereas involvement of the Nitrogen atoms is less pronounced and depends on the reaction conditions. This opens opportunities for the controlled synthesis of compounds with predetermined properties.

Analysis of *in silico* studies confirmed their significant role in modern medicinal chemistry. Molecular modeling methods allow preliminary evaluation of compound interactions with biological targets, prediction of pharmacokinetic properties, and selection of the most promising structures. The agreement between computational predictions and experimental data demonstrates the effectiveness of this approach as a preliminary screening step.

It has also been shown that 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives exhibit a broad spectrum of biological activities, including antifungal, antimicrobial, antioxidant, and anticonvulsant effects. In some cases, their efficacy is comparable to that of known drugs, confirming the promise of further research in this area.

**Synthesis of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives.** Derivatives of 1,2,4-triazole are currently considered one of the most promising classes of heterocyclic compounds in medicinal and pharmaceutical chemistry [1,2,3,4,5]. One of the structural features of substituted 1,2,4-triazoles is their ability to undergo tautomeric transformations, which enables interaction with various biological targets, including enzymes and receptor proteins [6]. The presence of Nitrogen atoms in the



heterocyclic system contributes to the formation of hydrogen and coordination bonds, which positively affects the pharmacological potential of these compounds [7,8]. Some representatives of this class also exhibit cardioprotective and neuroprotective activities, making them attractive candidates for the development of new drugs.

A significant advantage of 1,2,4-triazole derivatives is the wide range of possibilities for targeted chemical modification [9]. Variation in the nature of substituents in the 1,2,4-triazole ring positions and their subsequent functionalization allows regulation of lipophilicity, bioavailability, and toxicological characteristics of the compounds [10,11]. This, in turn, opens opportunities for optimizing pharmacological activity and reducing the risk of side effects. These properties have led to the development of numerous synthetic approaches for obtaining such compounds, which have been proposed over recent decades and continue to be actively improved [1,12,13,14,15,16,17].

The scientific literature describes numerous methods for the synthesis of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives based on the use of various starting substrates, including thiosemicarbazides, carboxylic acid hydrazides, isothiocyanates, esters, and amides of thiocarboxylic acids [18,19]. Cyclocondensation, intramolecular heterocyclization, nucleophilic substitution, and functionalization of the thiol group can proceed under different conditions—acidic, neutral, or basic media—using conventional heating, microwave irradiation, or catalysts. At the same time, even minor variations in synthesis parameters can significantly influence the course of the reaction process, its rate, the selectivity of target heterocycle formation, and the yield of the final product [20].

At the same time, the accumulated data on the synthesis of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives are predominantly descriptive in nature and are often focused on the preparation of individual compounds without a thorough comparative analysis of alternative methods [21,22]. In a significant number of studies, there is a lack of systematic evaluation of the advantages and disadvantages of the proposed synthetic approaches, their scalability, reproducibility, and compliance with modern environmental requirements. This complicates

the practical application of the available results in further research, especially in the development of a series of new derivatives with predicted physicochemical and biological properties.

The generalization and critical analysis of existing synthetic methods make it possible not only to systematize fragmented literature data but also to establish general patterns in the formation of the 1,2,4-triazole-3-thiol fragment, to determine the relationship between the structure of starting reagents and the efficiency of heterocyclization, and to outline the most promising directions for chemical modification. Particular importance is attached to the study of modern approaches aimed at reducing the number of synthetic steps, using less toxic reagents and solvents, decreasing energy consumption, and improving the economic efficiency of processes [23,24]. Therefore, a comprehensive generalization of information on the synthesis methods of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives is an important scientific task that forms the theoretical basis for the further development of the chemistry of these heterocyclic systems.

Such generalization contributes to the formation of a comprehensive understanding of the capabilities and limitations of existing synthetic approaches, facilitates the rational selection of optimal methods for obtaining target compounds, and serves as a foundation for the development of new, more efficient and technologically advanced synthetic routes for promising biologically active substances.

A group of researchers has proposed and implemented a stepwise approach to the synthesis of 17 new 1,2,4-triazole derivatives containing a thioether fragment of 1,3,4-thiadiazole. The target compounds were obtained through sequential organic transformations using appropriate heterocyclic precursors followed by functionalization with a thioether group (Fig. 1). The structures of the synthesized compounds were confirmed using modern physicochemical analytical methods [25,26].

As a result of the conducted studies, an efficient approach to the synthesis of starting compounds and *S*-alkyl derivatives of 4-(4-chlorophenyl)-5-(pyrrol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol was developed. The synthetic strategy was based on the

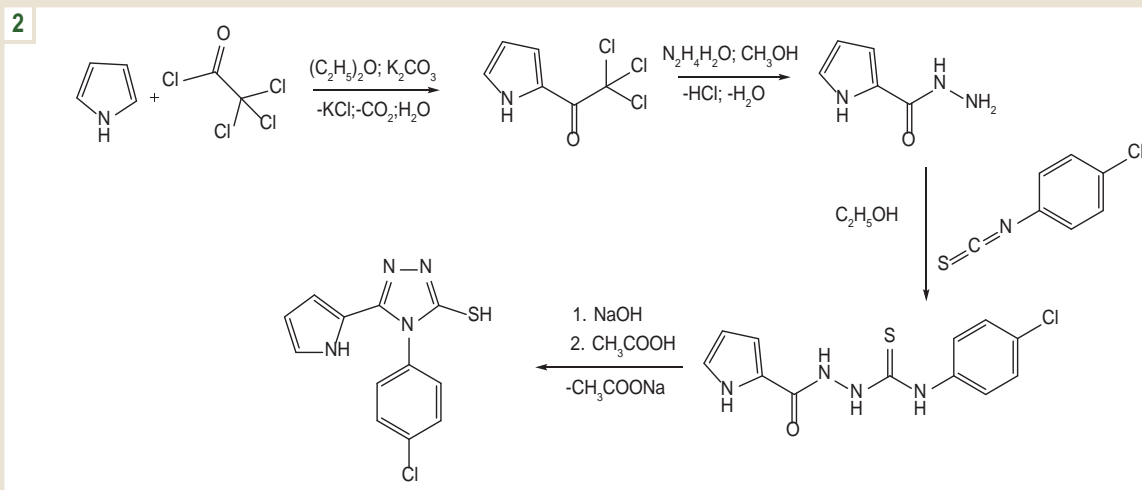


Fig. 2. Scheme of the synthesis of 4-(4-chlorophenyl)-5-(1*H*-pyrrol-2-yl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol.

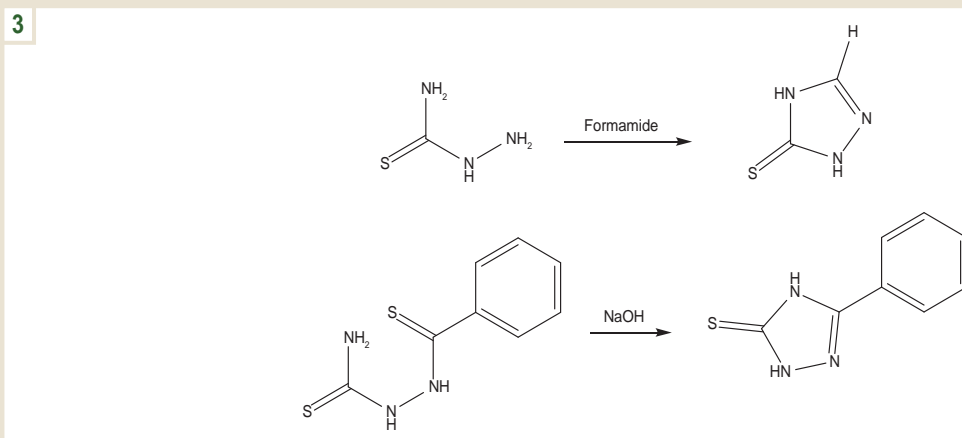


Fig. 3. Scheme of the synthesis of 5-phenyl-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazole-3-thione.

sequential implementation of targeted chemical transformations aimed at constructing the corresponding heterocyclic systems (Fig. 2) [27].

To obtain a series of substituted 1,2,4-triazole derivatives, classical approaches involving the cyclization of semicarbazides were applied. In particular, 1,2,4-triazole-3-thione was synthesized by the reaction of thiosemicarbazide with formamide, whereas 5-phenyl-1,2,4-triazole-3-thione was obtained from benzoylthiosemicarbazide in an alkaline medium of sodium hydroxide (Fig. 3) [28].

Pyrimidine-2-thiol, together with the triazole fragment, is widely used in organic synthesis. In particular, it can be employed as a lactam-protecting group to prevent side reactions involving cyclic amides, and it can also serve as an intermediate in the synthesis of pharmaceutical compounds. Within the framework of these studies, new hybrid compounds of the (1,2,4-triazol-3(2*H*)-yl)methylthiopyrimidine type were synthesized *via* heterocyclization of intermediate carbothioamides (Fig. 4) [29].

The researchers determined the optimal conditions for the direct interaction of thiosemicarbazides with carboxylic acids in the presence of a polyphosphate ester (PPE), which made

it possible to synthesize 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. The methodology involves carrying out the process in two consecutive stages: in the first stage, the thiosemicarbazide is acylated by the carboxylic acid in a chloroform medium in the presence of PPE at 90 °C using hydrothermal reaction equipment; in the second stage, the obtained acylated product undergoes cyclocondensation by treatment with an aqueous alkaline solution (Fig. 5) [19].

The application of the proposed synthetic approach allowed the preparation of 15 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives, among which five compounds were synthesized for the first time. The structural identification of the obtained products was carried out using NMR spectroscopy and mass spectrometry. It was found that replacing chloroform with ethyl acetate as the reaction medium leads to a fundamentally different course of the process (Fig. 6). The obtained results indirectly confirm the influence of the solubility of the acylation products in the reaction mixture on the efficiency of the synthesis. At the same time, the use of ethyl acetate was accompanied by the formation of a homogeneous reaction mass that was difficult to separate, highlighting the necessity of selecting the solvent individually depending on the structure of the target compounds.

4

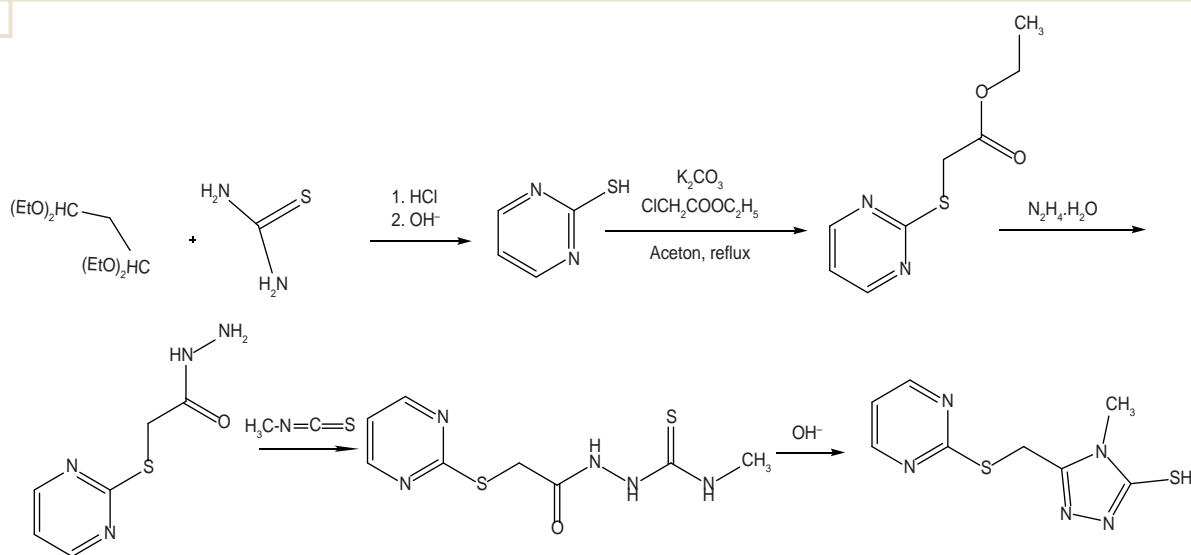


Fig. 4. Scheme of the synthesis of hybrids of 1,2,4-triazol-3(2H-yl)methylthiopyrimidine.

5

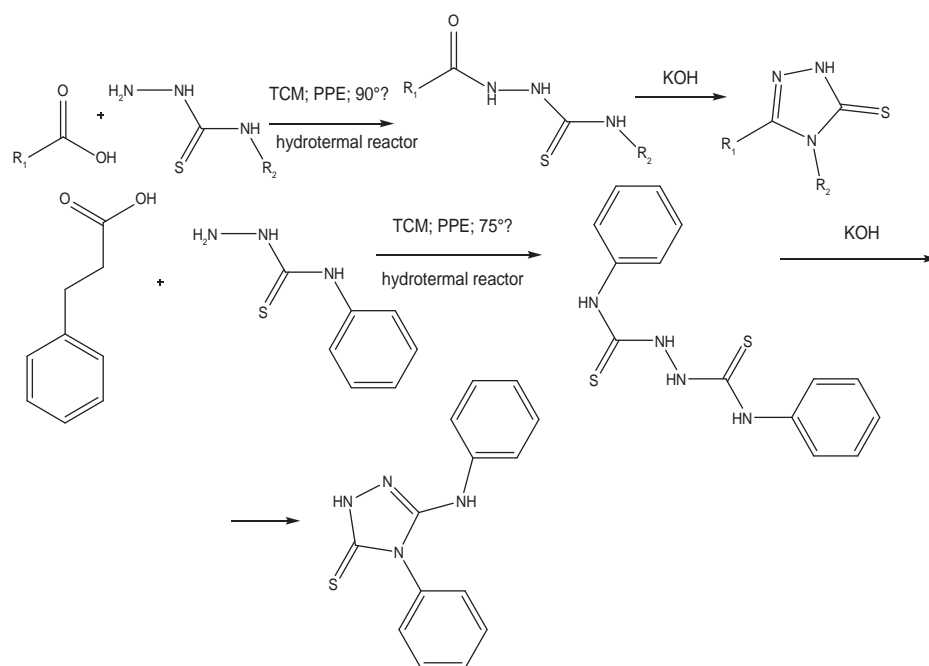


Fig. 5. Scheme of the synthesis of new 4-phenyl-5-(phenylamino)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione.

6

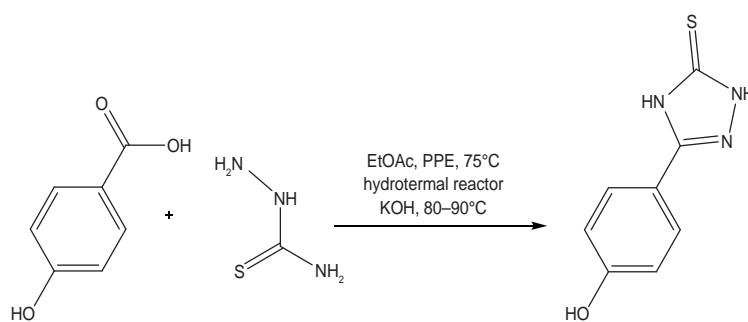
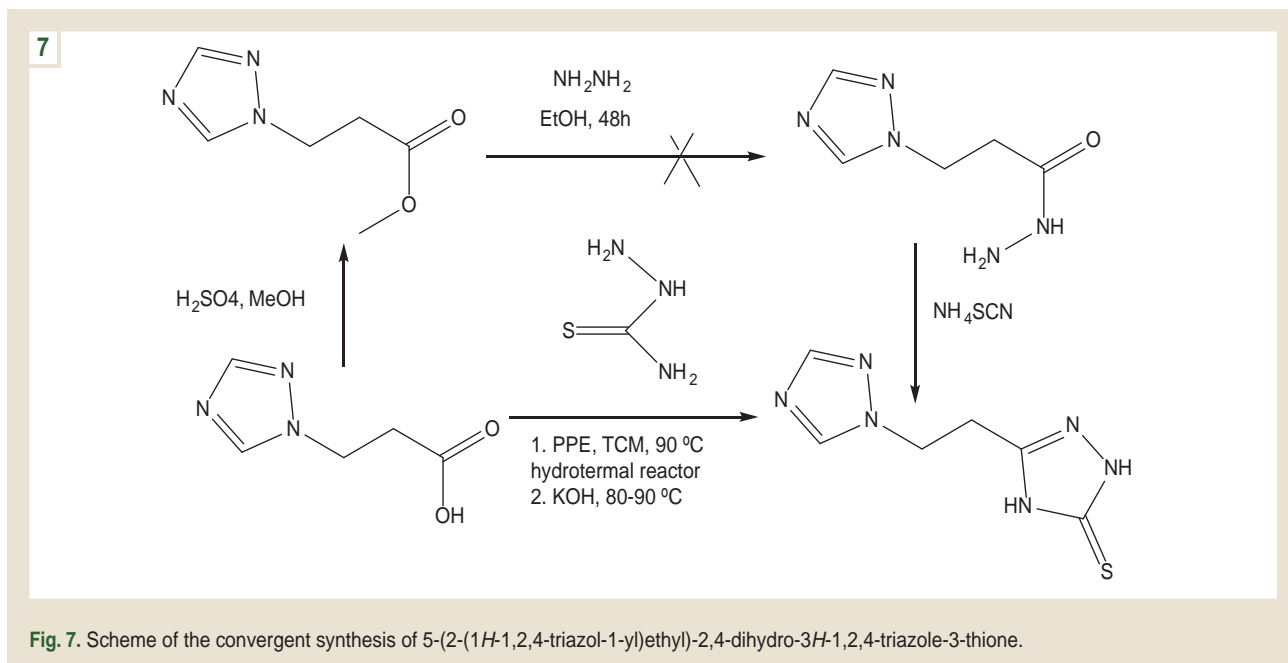


Fig. 6. Scheme of the synthesis of 5-(4-hydroxyphenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione via solvent replacement (chloroform with ethyl acetate).



The practical value of the proposed approach to the synthesis of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives is particularly evident in cases where obtaining the corresponding hydrazides, required for classical synthetic methods based on isothiocyanates, is difficult or requires the use of specific and non-standard conditions.

A demonstrative example of such situation is the synthetic scheme shown in Fig. 7. It was found that the reaction of a methyl ester with hydrazine in ethanol or isopropanol did not lead to the formation of the target hydrazide, even after a prolonged reaction time (48 h). At the same time, a structurally related compound – 3-(1H-benzotriazol-1-yl) propanehydrazide – was successfully formed under analogous conditions, indicating a significant influence of the structure of the starting compound on the course of the reaction illustrated in the scheme in Fig. 7.

**Chemical modification of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives.** The need to generalize data on the reactivity of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives involving the thiol group is driven by the growing interest in this class of heterocyclic compounds as promising objects in medicinal, pharmaceutical, and bioorganic chemistry. The chemically active thiol group (-SH) within the molecule determines their ability to undergo various chemical transformations, including alkylation, acylation, oxidation, as well as the formation of thioethers, disulfides, and coordination compounds. This provides broad opportunities for the targeted synthesis of new functionalized derivatives.

At the same time, the literature contains a substantial amount of information regarding the influence of the electronic nature of substituents, thiol-thione tautomerism, reaction conditions, and reagent choice on the chemoselectivity and course of transformations involving the thiol group; however, these data are fragmented and unsystematized. The lack of a comprehensive summary complicates the prediction of the

reactivity of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives, the rational design of synthetic routes, and the reproducibility of experimental results.

Systematizing the available information on thiol-group reactions is an important prerequisite for establishing general patterns of chemical behavior for this class of compounds, understanding the relationship between their structure and reactivity, and optimizing conditions for the synthesis of biologically active substances with predetermined properties. Implementing such an approach will contribute not only to deepening theoretical knowledge of 1,2,4-triazole-3-thiol chemistry but also to forming a scientifically grounded basis for the development of new pharmaceuticals and functional materials.

An original method for transformations involving the thiol group was proposed by the authors' team. Optimization of alkylation conditions through the selection of the alkylating agent, solvent, and base allowed for increased selectivity at the sulfur atom and higher yields of the target products. As a result, a series of new *S*-derivatives of 1,2,4-triazole were synthesized, and their structures were confirmed using modern physicochemical analytical methods (<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, IR spectroscopy, mass spectrometry). It was demonstrated that the proposed approach is universal and can be applied to the modification of various substituted 1,2,4-triazol-3-thiols, expanding the possibilities for the targeted synthesis of potentially biologically active compounds (Fig. 8) [26].

Alkylation of thiols with haloalkanes is one of the most common and efficient methods for the synthesis of thioethers (sulfides) and is widely used in organic and medicinal synthesis. This process proceeds *via* a nucleophilic substitution mechanism, primarily of the S<sub>N</sub>2 type, in which the thiol group (-SH), or more often its deprotonated form – the thiolate anion (RS<sup>-</sup>) – acts as a nucleophile, attacking the electrophilic Carbon atom of the haloalkane (Fig. 9).

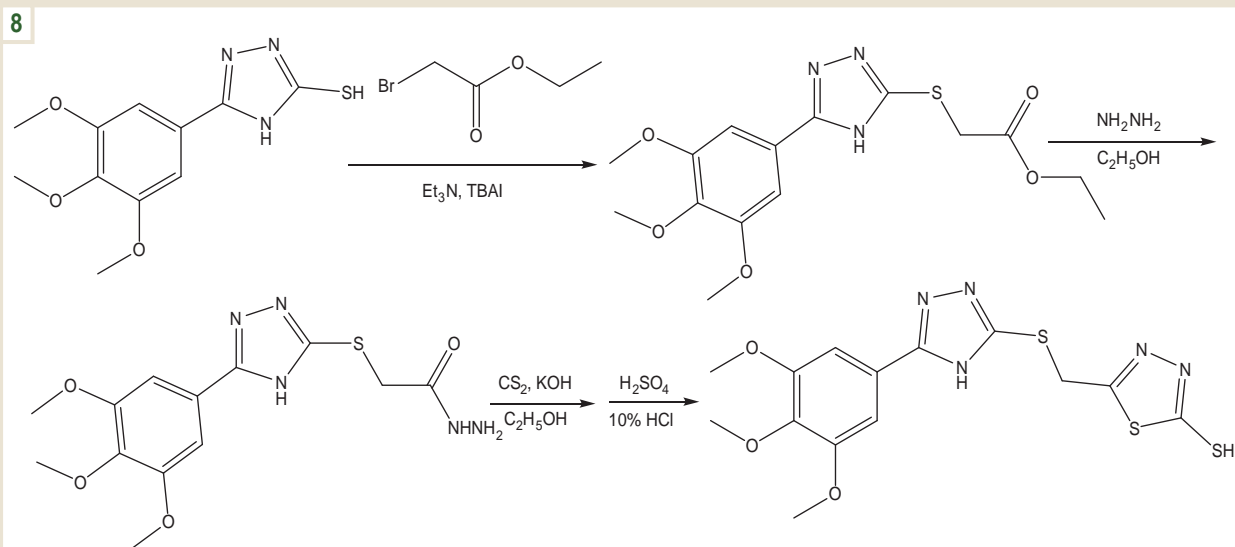


Fig. 8. Scheme of thiol-group transformations of new 5-(((5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)methyl)-1,3,4-thiadiazole-2-thiol.

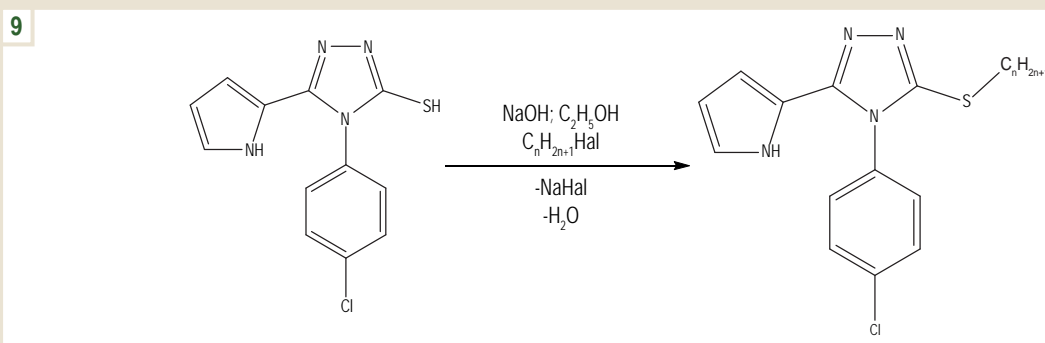


Fig. 9. Alkylation of 4-(4-chlorophenyl)-5-(1H-pyrrol-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol.

For reactions proceeding *via* the  $S_N2$  mechanism, inversion of configuration at a chiral center is characteristic. In most cases, alkylation is carried out in the presence of bases (NaOH,  $K_2CO_3$ , NaH, organic amines), which ensure the formation of the reactive thiolate anion and help increase the reaction rate and selectivity. The high nucleophilicity of thiolate anions compared to alkoxides is a significant advantage, as it allows alkylation under milder conditions while achieving high yields of the target products [27].

The reaction of phenacyl bromide with 1,2,4-triazole-3-thiol exhibits a number of characteristic features due to the high electrophilicity of the  $\alpha$ -haloketone and the ambident nucleophilic nature of the triazole thiol [28]. In the phenacyl bromide molecule, the bromine atom is located at the  $\alpha$ -position relative to the carbonyl group, which leads to significant polarization of the C-Br bond and increases the electrophilicity of the methylene carbon atom, facilitating nucleophilic substitution reactions.

1,2,4-Triazole-3-thiol can exist in both thiol and thione tautomeric forms; however, under alkylation conditions, the primary reactive center is the sulfur atom of the thiol group, which exhibits considerably higher nucleophilicity compared

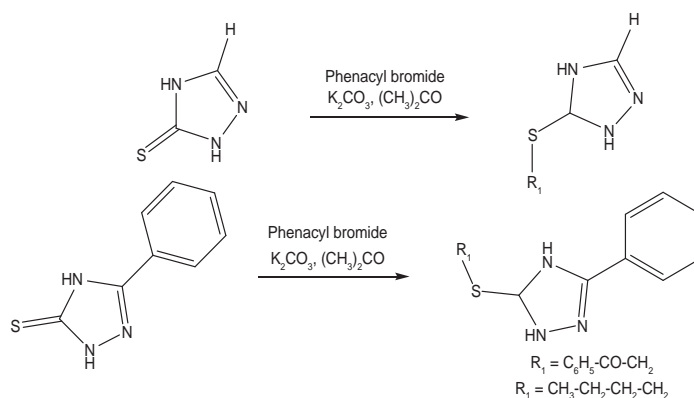
to the Nitrogen atoms of the heterocyclic ring (Fig. 10). In the presence of a base, a thiolate anion is formed, promoting an  $S_N2$  mechanism with attack on the  $\alpha$ -Carbon of phenacyl bromide and elimination of the bromide anion.

As a result, the reaction predominantly yields the *S*-alkylated product – a phenacyl sulfide derivative of 1,2,4-triazole. The high regioselectivity at the Sulfur atom is due to a combination of the enhanced nucleophilicity of the *S* atom, favorable interaction of a “soft” nucleophile with a “soft” electrophilic center, and the thermodynamic stability of the resulting thioether bond. The use of polar aprotic solvents (DMF, DMSO, acetone) in combination with mild bases contributes to increased reaction rates and higher yields of the target products.

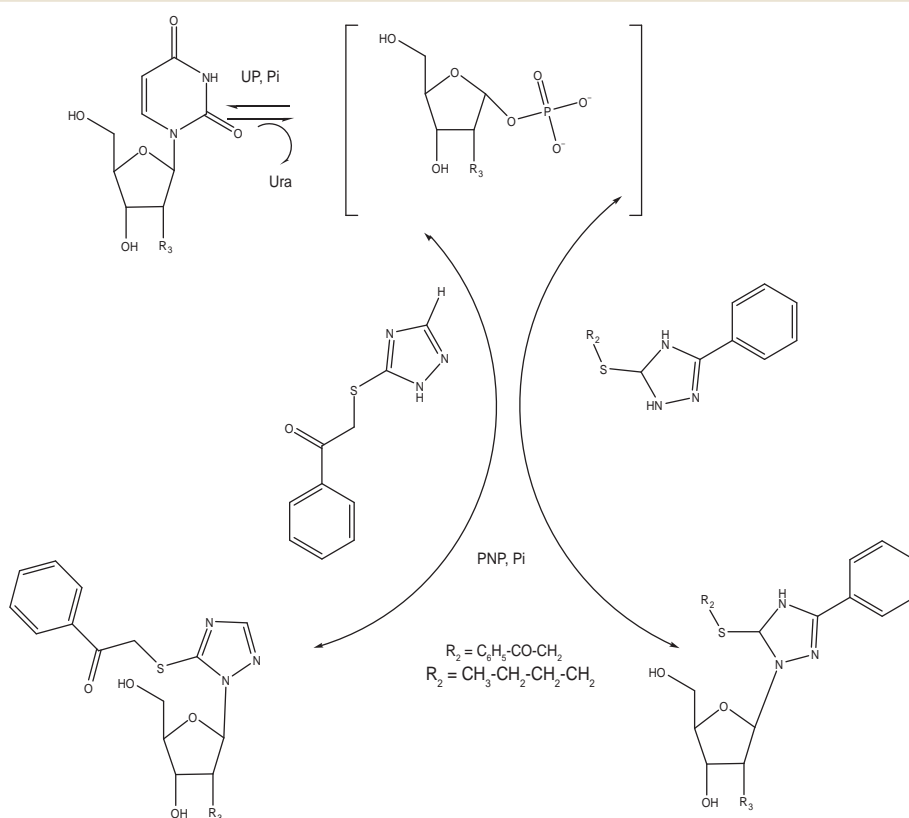
Under harsher conditions or if the nucleophilicity of the thiol group is reduced, competitive *N*-alkylation of the triazole ring is possible, although it is usually a minor pathway. The obtained phenacyl sulfide derivatives of 1,2,4-triazole are of interest as synthetic intermediates and as promising targets for further chemical modification and biological studies.

An original approach to the interaction of nucleoside phosphates with *S*-derivatives of 1,2,4-triazole was proposed

10

Fig. 10. Scheme of the synthesis of new *S*-derivatives of 1,2,4-triazole.

11

Fig. 11. Scheme of the interaction of a nucleoside phosphate with *S*-derivatives of 1,2,4-triazole.

by the authors' team [28]. Overall, this process can be considered as a nucleophilic substitution or phosphorylation at the Nitrogen atom of the heterocyclic ring, leading to the formation of new *N*-linked conjugates of the nucleoside-triazole type (Fig. 11).

Such compounds are of considerable interest in medicinal chemistry, as they can mimic the structural motifs of natural nucleotides and potentially exhibit inhibitory activity against nucleotide-dependent enzymes.

Alkylation of (1,2,4-triazol-3(2*H*)-yl)methyl thiopyrimidines with haloalkanes is one of the key and widely used methods for the chemical modification of these heterocyclic

systems, which is explained by the presence of multiple nucleophilic centers in their structure (Fig. 12). The Sulfur atom of the thiopyrimidine fragment exerts a decisive influence on the course of the reaction; due to its high nucleophilicity and polarization capability, it predominantly undergoes alkylation, ensuring the selective formation of *S*-alkylated products.

In contrast, the Nitrogen atoms of the triazole ring exhibit significantly lower reactivity under standard conditions, so *N*-alkylation is usually a minor process and occurs only under harsher conditions or with the use of stronger alkylating agents [29].

12

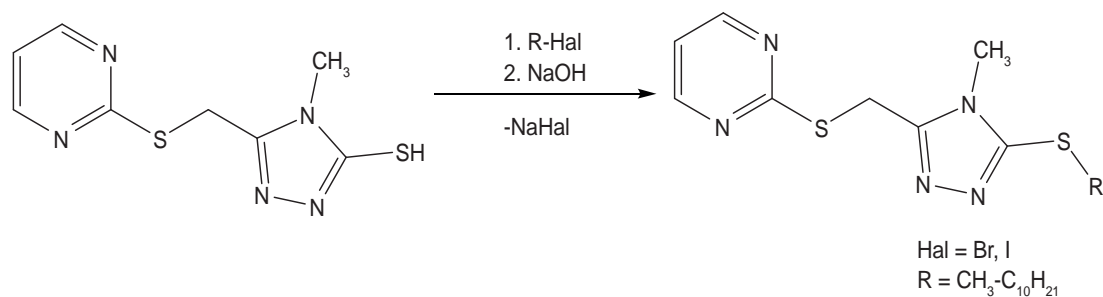


Fig. 12. Scheme of the synthesis of new *S*-derivatives of 1,2,4-triazole.

13

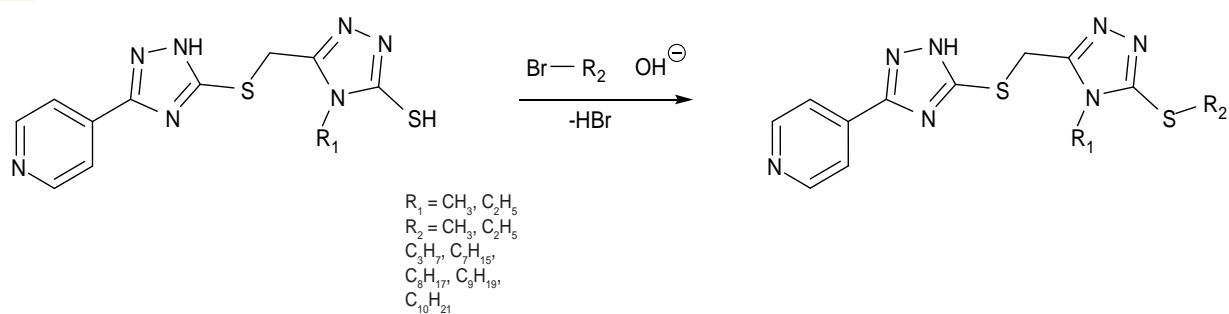


Fig. 13. Scheme of the synthesis of *S*-alkylated 4-alkyl-5-(((3-(pyridin-4-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)thio)methyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiols.

14

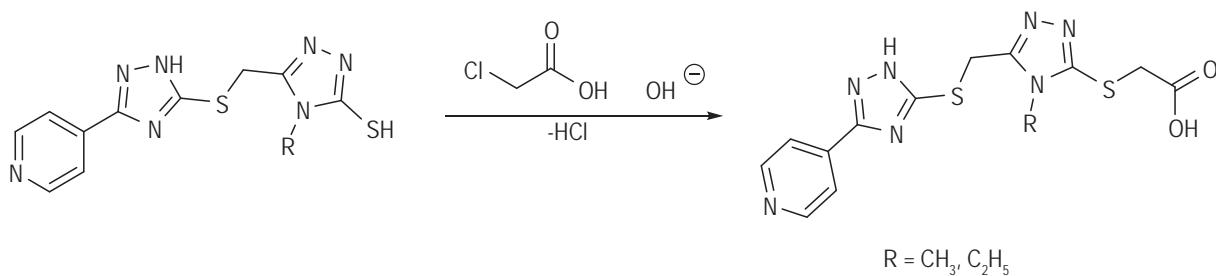


Fig. 14. Scheme of the synthesis of 2-((4-alkyl-5-(((3-(pyridin-4-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)thio)methyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acids.

1,2,4-Triazole derivatives containing a thiol group represent an important class of heterocyclic compounds, distinguished by high reactivity and a wide range of biological effects [30].

Of particular interest are the *S*-alkylated derivatives, as modification of the sulfur atom of the thiol group allows targeted control over the lipophilicity, chemical stability, and pharmacological properties of the compounds.

The corresponding *S*-alkylated products were obtained from 4-alkyl-5-(((3-(pyridin-4-yl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)thio)methyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-thiols, which contain a free thiol group at the third position of the 1,2,4-triazole ring (Fig. 13).

This functional group serves as the primary reactive center in subsequent *S*-alkylation processes.

Heterocyclic compounds containing 1,2,4-triazole and pyridine fragments occupy a key position in modern medicinal and pharmaceutical chemistry. The combination of two pharmacophoric rings – 1,2,4-triazole and pyridine – in a single molecule, along with thioether and carboxyl groups, creates favorable conditions for exhibiting diverse biological activities [31]. The carboxyl group of thioacetic acid enables ionic interactions with biomolecular targets and allows the formation of water-soluble salts, which is important for pharmaceutical applications (Fig. 14).

Alkyl substituents at the 4<sup>th</sup> position of the 1,2,4-triazole ring modulate lipophilicity and membrane permeability, affecting both the level and spectrum of biological activity. The combination of these structural features makes these compounds promising as potential antimicrobial, antifungal, and anti-inflammatory agents and justifies the need for further pharmacological studies.

## Conclusions

1. Analysis of recent literature sources has shown that 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives represent a promising class of heterocyclic compounds with a broad spectrum of biological activities, including antimicrobial, antifungal, antiviral, antioxidant, and other effects, combined with relatively low toxicity.

2. It has been established that their pharmacological potential is largely determined by the possibility of targeted structural modification, particularly through the thiol group, which confers high reactivity and favors the formation of *S*-substituted products.

3. These compounds can be synthesized using various methods; however, no universal approach exists, and the efficiency of the processes depends on the reaction conditions and the nature of the starting components.

4. The generalization of data confirms the existence of a structure-activity relationship, providing a foundation for the rational design of new biologically active compounds. At the same time, the available studies are fragmentary and insufficiently systematized, which complicates their practical application.

5. The use of modern *in silico* methods has proven to be an effective tool for the preliminary selection of promising compounds.

**Prospects for further research.** The results indicate the expediency of further research on 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives as a basis for the development of new pharmaceutical agents.

## Funding

This study was funded by a state budget research project of the Ministry of Health of Ukraine entitled "Development of 1,2,4-triazole derivatives with polypharmacological activity for the needs of military medicine and people affected by hostilities", state registration No. 0126U001480 (2026–2028).

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Information about the authors:

Kalchenko V. V., Postgraduate Student at the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0009-0008-2709-1148

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

ORCID ID: 0000-0002-9742-0284

## Відомості про авторів:

Кальченко В. В., аспірант каф. токсикологічної та неогранічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

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



Роман Щербина (Roman Shcherbyna)  
rscherbyna@gmail.com

## References

- Shi H, Li M, Zhou Z, Lu A, Wang Z. Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1,2,4-Triazole Derivatives Containing Amino Acid Fragments. *Molecules*. 2025;30(8):1692. doi: [10.3390/molecules30081692](https://doi.org/10.3390/molecules30081692)
- Song H, Wang S, Cai Q, Chen J. Research progress of triazole derivatives in the discovery of agricultural chemicals. *J Heterocycl Chem*. 2024;61(2):365. doi: [10.1002/jhet.4767](https://doi.org/10.1002/jhet.4767)
- Naeem N, Mughal EU, Sadiq A, Othman GA, Shakoob B. Recent Advances in 1,2,4-Triazole-Based Anticancer Agents: Structural Optimization, Mechanisms, and Therapeutic Potential (2022-2025). *Arch Pharm (Weinheim)*. 2025;358(7):e70059. doi: [10.1002/ardp.70059](https://doi.org/10.1002/ardp.70059)
- Ozcan I, Alici H, Taslimi P, Tahtaci H. Novel 1,2,4-triazole-derived Schiff base derivatives: Design, synthesis, and multi-enzyme targeting potential for therapeutic applications. *Bioorg Chem*. 2025;157:108246. doi: [10.1016/j.bioorg.2025.108246](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.108246)
- Gao-Li D, Jun-Jian W, Jia Y. Current scenario of indole-azole hybrids with anticancer potential: part I. triazole and pyrazole hybrids. *Future Med Chem*. 2026;18(2):219-31. doi: [10.1080/17568919.2025.2602420](https://doi.org/10.1080/17568919.2025.2602420)
- Deb M, Singh H, Manhas D, Nandi U, Guru SK, Das P. Development of di-arylated 1,2,4-triazole-based derivatives as therapeutic agents against breast cancer: synthesis and biological evaluation. *RSC Med Chem*. 2024;15(9):3097-113. doi: [10.1039/d4md00285g](https://doi.org/10.1039/d4md00285g)
- Haseeb K, Mustafa MH, Zafar W, Hassan AU, Chohan ZH, Sumra SH. Metal-based triazoles as a medical marvel of the modern era: a comprehensive review. *RSC Adv*. 2026;16(2):1457-98. doi: [10.1039/d5ra07766d](https://doi.org/10.1039/d5ra07766d)
- Brullo C, Marengo B, Domenicotti C, Lusardi M, Cichero E, Salis A, Caviglia D, Russo E, Spallarossa A. Triazole-imidazo[1,2-b]pyrazoles Able to Counteract Melanoma Cell Survival Without Compromising the Viability of Healthy Keratinocytes. *Int J Mol Sci*. 2025 Jun 30;26(13):6312. doi: [10.3390/ijms26136312](https://doi.org/10.3390/ijms26136312)
- Ghaith EA, Abdallah AB, El-Sawi AA, El-Bana GG. Ultrasound-assisted utility of 1,2,4-triazole as a multisite-sequential scaffold to construct different heterocycles, accredited by molecular modeling and electrochemical studies. *J Heterocycl Chem*. 2025;62(12):1863-75. doi: [10.1002/jhet.70101](https://doi.org/10.1002/jhet.70101)
- Kucherenko LI, Karpenko YV, Ohloblina MV, Zazharskyi VV, Bilan MV, Kulishenko OM, et al. [Monitoring the properties of 1,2,4-triazole derivatives for the development of original antimicrobial drugs]. *Zaporozhye Medical Journal*. 2024;26(6):481-9. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1210.2024.6.309034](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.6.309034)
- Grytsak O, Schabelnyk K, Kinichenko A, Komarovska-Porokhnyvets O, Lubenets V, Voskoboinik O, et al. [1,2,4]triazolo[2,3-c]quinazoline hybrids withazole and azine heterocycles: design, synthesis, antibacterial and antiradical activity. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024;(6):4-14. doi: [10.15587/2519-4852.2024.318160](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.318160)
- Wang J, Shi H, Lu A. Design, Synthesis, and Antifungal/Anti-Oomycete Activities of Novel 1,2,4-Triazole Derivatives Containing Carboxamide Fragments. *J Fungi (Basel)*. 2024;10(2):160. doi: [10.3390/jof10020160](https://doi.org/10.3390/jof10020160)
- Ghobish SA, Mohamed KO, Farag N, Farag DB. Novel indolyl 1,2,4-triazole derivatives as potential anti-proliferative agents: *in silico* studies, synthesis, and biological evaluation. *RSC Med Chem*. 2023;15(1):293-308. doi: [10.1039/d3md00524k](https://doi.org/10.1039/d3md00524k)
- Elrashedy A, Ibrahim NE, Abo-Salem H, Elaasser MM, El-Sawy ER. Design, synthesis, and molecular modeling of new 1,2,4-triazole-containing indole compounds as aromatase antagonists for the treatment of breast cancer. *Bioorg Chem*. 2025;163:108677. doi: [10.1016/j.bioorg.2025.108677](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2025.108677)
- Abdelmegeed H, Abo-Salem H, Abd El Salam HA, El-Sawy ER. A novel 1,2,4-triazole derivative inhibits epithelial-mesenchymal transition in metastatic colorectal cancer via  $\beta$ -catenin suppression. *Eur J Med Chem*. 2026;302(Pt 1):118279. doi: [10.1016/j.ejmech.2025.118279](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.118279)
- Salionov VO, Smoilovska HP. [The potential of 1,2,4-triazole derivatives as antioxidant agents (literature review)]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2025;18(1):114-8. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2025.1.319139](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.1.319139)

17. Borysenko NM, Parchenko VV, Bushuieva IV, Yerenko OK. [Study of anticonvulsant properties of 1,2,4-triazole derivatives and prospects for their use in pharmacy]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2025;18(2):223-7. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2025.2.320738](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.2.320738)
18. Ziyaev AA, Sasmakov SA, Toshmurodov TT, Abdurakhmanov JM, Ikramov SA, Khasanov SS, et al. Synthesis and Biological Activity of 5-Substituted-2,4-dihydro-1,2,4-triazole-3-thiones and Their Derivatives. *Organics*. 2025;6(3):41. doi: [10.3390/org6030041](https://doi.org/10.3390/org6030041)
19. Dovbnia DV, Kaplaushenko AH, Frolova YS, Pruglo ES. Synthesis and antioxidant properties of new (2,4- and 3,4-dimethoxyphenyl)-1,2,4-triazoles. *Farmacia*. 2022;69(1):135-42. doi: [10.3897/pharmacia.69.e74107](https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e74107)
20. Aly AA, A Hassan A, Makhlof MM, Bräse S. Chemistry and Biological Activities of 1,2,4-Triazolethiones-Antiviral and Anti-Infective Drugs. *Molecules*. 2020;25(13):3036. doi: [10.3390/molecules25133036](https://doi.org/10.3390/molecules25133036)
21. Karpenko YV, Panasenko OI, Syrota PS. [Synthesis and antibacterial activity of a number of new s-derivatives (1,2,4-triazol-3(2h)-yl)methyl thiopyrimidines]. *Ukrains'kij Zurnal Vijskovoi Medicini*. 2023;4(4):120-5. doi: [https://doi:10.46847/ujmm.2023.4\(4\)-120](https://doi.org/10.46847/ujmm.2023.4(4)-120)
22. Tok F, Damar Çelik D. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of some new 2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione derivatives. *Turk J Pharm Sci*. 2025;22(5):349-56. doi: [10.4274/tjps.galenos.2025.77834](https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2025.77834)
23. Karpenko YV, Panasenko MO. 4-phenyl-5-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-1,2,4-triazole-3-thiol as a platform for the synthesis of unsymmetrical disulfides. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2025;18(2):123-30. doi: [https://doi:10.14739/2409-2932.2025.2.328770](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.2.328770)
24. Koparir P, Anwar Omar R, Sarac K, Koparir M, Safin DA. Novel 1,2,4-triazolethiol–thiophen hybrids: Facile synthesis, characterization, ADMET prediction and molecular docking. *Polycycl Aromat Compd*. 2024;44(8):5279-93. doi: [10.1080/10406638.2023.2264448](https://doi.org/10.1080/10406638.2023.2264448)
25. Jiang Y, An J, Xia Y, Fei Q, Wang D, Lu Y, et al. Design, synthesis, and antimicrobial evaluation of novel 1,2,4-triazole thioether derivatives with a 1,3,4-thiadiazole skeleton. *RSC Adv*. 2025;15(34):28084-92. doi: [10.1039/d5ra04574f](https://doi.org/10.1039/d5ra04574f)
26. Panasenko OI, Panasenko MO, Zazharskyi VV, Samura TO, Zazharska NM, Fedotov SO, et al. Synthesis and antimicrobial evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives. *Regul Mech Biosyst*. 2025;16(3):e25132. doi: [10.15421/0225132](https://doi.org/10.15421/0225132)
27. Gotsulya A, Fedotov S, Zynych O, Trofimova T, Brytanova T. Synthesis and properties of s-alkyl 4-(4-chlorophenyl)-5-(pyrrole-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Ank Univ Eczaci Fak Derg*. 2023;47(3):1020-32. doi: [10.33483/jfpau.1280492](https://doi.org/10.33483/jfpau.1280492)
28. Dovbnia DV, Kaplaushenko AG, Shcherbyna RO, Solomenna OO, Belozerova OV, Trokhymchuk VV. Searching for antioxidants and antihypoxants among 1,2,4-triazole-3-thione derivatives as promising agents for the correction of pathological conditions induced by military hostilities. *Ukrains'kij Zurnal Vijskovoi Medicini*. 2026;7(1):133-45. doi: [10.46847/ujmm.2026.1\(7\)-133](https://doi.org/10.46847/ujmm.2026.1(7)-133)
29. Karpenko YV, Panasenko OI, Kulish SM, Domnich AV. [Synthesis and acute toxicity of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methyl thiopyrimidines]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2023;16(2):158-64. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2023.2.274586](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.274586)
30. Karpun Y, Polishchuk N. Synthesis and antimicrobial activity of S-substituted derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol. *ScienceRise: Pharm Sci*. 2021;(3):64-9. doi: [10.15587/2519-4852.2021.235976](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.235976)
31. Karpun Y. Synthesis and physicochemical properties of novel s-substituted bis-1,2,4-triazoles. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2021;41(3):152-63. doi: [10.52794/hujpharm.973420](https://doi.org/10.52794/hujpharm.973420)



# Перспективи пошуку нових антиоксидантів серед тiazоловмісних гетероциклів: сучасний стан і напрями розвитку

Т. І. Чабан <sup>1</sup><sup>A,B,D</sup>, М. І. Лелюх <sup>2</sup><sup>B,C,D</sup>, У. Б. Чуловська <sup>3</sup><sup>B,C,E</sup>, І. Г. Чабан <sup>4</sup><sup>C,D,E</sup>, В. В. Огурцов <sup>5</sup><sup>A,C,F</sup>

Державне некомерційне підприємство «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», 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** – систематизувати сучасні дані фахової літератури щодо механізмів антиоксидантної дії та перспектив структурного вдосконалення тiazоловмісних сполук, що дасть змогу окреслити ключові напрями подальших досліджень у цій сфері.

**Матеріали і методи.** Інформаційно-аналітичну основу роботи сформовано шляхом систематизованого пошуку наукових публікацій у міжнародних базах даних Scopus, Web of Science Core Collection, PubMed / MEDLINE та Google Scholar за період 2011–2026 рр. із пріоритетом досліджень на останні 5 років. До аналізу включили повнотекстові оригінальні дослідження з кількісним оцінюванням антиоксидантної активності та роботи із SAR/QSAR-аналізом. Узагальнення здійснили із застосуванням системного, порівняльного та контент-аналізу для встановлення закономірностей «структура – активність» і визначення перспектив структурної оптимізації тiazоловмісних сполук відповідно до чинних вимог до оглядових досліджень.

**Результати.** Антиоксиданти відіграють важливу роль у профілактиці та лікуванні захворювань, що пов'язані з оксидативним стресом, включаючи серцево-судинні, нейродегенеративні та онкологічні патології. Незважаючи на широкий спектр природних і синтетичних антиоксидантів, їхня терапевтична ефективність обмежена через низьку біодоступність, нестійкість у біологічних середовищах і можливу токсичність. Гетероциклічні сполуки з тiazольним фрагментом показали значний потенціал як антиоксиданти завдяки здатності захоплювати вільні радикали, хелатувати метали та стабілізувати активні форми кисню. Узагальнено сучасні дані щодо синтезу, механізмів дії, методів оцінювання антиоксидантної активності та перспектив структурного удосконалення гетероциклів. Запропоновано критичний аналіз чинних підходів та визначено ключові напрями для наступних досліджень з використанням мультидисциплінарних стратегій.

**Висновки.** Тiazоловмісні гетероцикли формують широкий спектр структурних систем, які відрізняються за електронною будовою та механізмами антиоксидантної дії. Крім того, підвищення антиоксидантної активності досягають через введення електронодонорних замісників, фенольних фрагментів і комбінування з іншими гетероциклічними системами, що дає змогу створювати мультифункціональні молекули з потенційно високою терапевтичною цінністю.

**Ключові слова:** тiazоловмісні гетероцикли, антиоксиданти, залежність «структура – активність».

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 195-207**

## Prospects for the search for new antioxidants among thiazole-containing heterocycles: current status and development directions

T. I. Chaban, M. I. Lelyukh, U. B. Chulovska, I. H. Chaban, V. V. Ogurtsov

**The aim of work:** to systematize current literature data on the mechanisms of antioxidant action and prospects for structural improvement of thiazole-containing compounds, which will allow us to outline key directions of further research in this area.

**Materials and methods:** The information-analytical framework of this study was established through a systematic search of scientific publications in the international databases Scopus, Web of Science Core Collection, PubMed / MEDLINE, and Google Scholar, covering the period 2011–2026, with particular emphasis on studies published within the last five years. Full-text original research articles reporting quantitative evaluation of antioxidant activity, as well as studies involving SAR/QSAR analysis, were included in the review. Data synthesis was performed using systematic, comparative, and content analysis approaches to identify structure – activity relationships and to define prospects for the structural optimization of thiazole-containing compounds in accordance with current standards for review articles.

**Results.** Antioxidants play an important role in the prevention and treatment of diseases associated with oxidative stress, including cardiovascular, neurodegenerative and oncological pathologies. Despite a wide range of natural and synthetic antioxidants, their therapeutic efficacy is limited due to low bioavailability, instability in biological media and possible toxicity. Thiazole-containing heterocyclic compounds have shown significant potential as antioxidants due to their ability to scavenge free radicals, chelate metals and stabilize reactive oxygen

### ARTICLE INFO



UDC 547.789:615.277(048.8)  
DOI: 10.14739/2409-2932.2026.2.352236

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):195-207

**Keywords:** thiazole-containing heterocycles, antioxidants, structure – activity relationship.

Received: 16.02.2026 // Revised: 15.04.2026 // Accepted: 23.04.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

species. This review summarizes current data on the synthesis, mechanisms of action, methods for assessing antioxidant activity and prospects for structural improvement of thiazole-containing heterocycles. A critical analysis of existing approaches is proposed and key directions for further research using multidisciplinary strategies are identified.

**Conclusions.** Thiazole-containing heterocycles form a wide range of structural systems that differ in electronic structure and mechanisms of antioxidant action. In addition, increased antioxidant activity is achieved through the introduction of electron-donating substituents, phenolic fragments and combination with other heterocyclic systems, which allows the creation of multifunctional molecules with potentially high therapeutic value.

**Keywords:** thiazole-containing heterocycles, antioxidants, structure – activity relationship.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):195-207**

Оксидативний стрес є одним із ключових механізмів, що лежить в основі патогенезу численних хронічних захворювань, включаючи серцево-судинні патології, нейродегенеративні розлади, метаболічні синдроми й онкологічні захворювання [1,2,3].

У нормі реактивні форми кисню (ROS) та реактивні азотисті сполуки (RNS) беруть участь у фізіологічних процесах, зокрема в передачі сигналів, імунній відповіді та регуляції клітинного метаболізму. Проте їх надмірне накопичення призводить до пошкодження ліпідів, білків, нуклеїнових кислот і клітинних органел, що зумовлює порушення функціонування тканин і органів [4,5]. У зв'язку з цим антиоксиданти, які здатні нейтралізувати ROS/RNS або запобігати їх утворенню, визначають як важливий інструмент профілактики та терапії багатьох захворювань.

Останніми десятиліттями значно посилюється науковий інтерес до антиоксидантів, що пов'язано з поширенням хронічних захворювань і старінням населення, а також з розумінням ролі оксидативного стресу в їх прогресуванні. Природні антиоксиданти, зокрема поліфеноли, вітаміни (С, Е) та каротиноїди, широко досліджують і застосовують у харчовій промисловості, фармакології та косметології. Однак їхня ефективність часто обмежується низькою біодоступністю, швидким метаболізмом, нестабільністю в організмі, а також несприятливими фармакокінетичними властивостями [6,7,8]. Крім того, у певних умовах природні антиоксиданти можуть виявляти прооксидантні властивості або взаємодіяти з іншими лікарськими засобами, що знижує їхню клінічну ефективність і безпеку [9,10]. Отже, доцільним є створення нових антиоксидантів із покращеними фармакологічними характеристиками, що можуть забезпечити стабільний захист від оксидативних ушкоджень у різних біологічних системах.

Сучасна фармацевтична хімія активно шукає такі сполуки шляхом застосування мультидисциплінарних стратегій, що включають синтез нових хімічних скелетів, моделювання структури – активності (QSAR), а також оцінювання біологічної активності в широкому спектрі тестів. У цьому контексті гетероциклічні системи є особливо перспективними, оскільки їхня структура дає змогу тонко налаштувати електронні, просторові та фізико-хімічні властивості молекул. Тіазоловімісні сполуки завдяки своєму п'ятичленному каркасу з атомами сірки й азоту мають унікальні електронні характеристики, що сприяють стабілізації радикальних проміжних продуктів і підсилюють здатність до радикального захоплення

[11,12]. Ця особливість робить їх потенційними кандидатами для розробки нових антиоксидантів, які можуть перевершувати за ефективністю традиційні природні та синтетичні аналоги.

Особливий інтерес у контексті антиоксидантної хімії викликають тіазолідин-2-они та їхні похідні. Тіазолідин-2-он – гетероциклічний каркас, який поєднує електронодонорні й акцепторні властивості, що дає змогу ефективно стабілізувати радикали та сприяє перерозподілу електронної густини в молекулі. Крім того, ці сполуки характеризуються високою хімічною гнучкістю, і тому можна здійснювати структурні модифікації для оптимізації біологічної активності. У фаховій літературі описано численні приклади похідних тіазолідин-2-онів, що мають не лише антиоксидантну, але й протизапальну, антимікробну, протипухлинну та інші види біологічної активності [13,14,15]. Це дає підстави для розробки мультифункціональних агентів, які можуть одночасно впливати на кілька патогенетичних ланок захворювань, що зумовлені оксидативним стресом.

Незважаючи на значний прогрес у синтезі та первинному оцінюванні антиоксидантної активності тіазоловімісних сполук, у науковій літературі залишається недостатньо систематизованих даних щодо кореляції структури й активності (SAR), механізмів дії та перспектив трансляції *in vitro* результатів в *in vivo* моделі. Ба більше, питання фармакокінетики, метаболічної стабільності та токсикологічної безпеки таких сполук часто вивчають фрагментарно або в межах окремих досліджень, що обмежує їхню практичну цінність. Тому продовження розвитку цього напрямку потребує інтегрованого підходу, що включає синтез нових похідних, комплексне оцінювання антиоксидантної активності, QSAR-аналіз, а також дослідження механізмів дії на молекулярному рівні.

Крім того, зауважимо, що сучасні підходи до оцінювання антиоксидантної активності мають враховувати не лише радикал-сповільнювальні властивості, але й здатність молекул впливати на ендогенні антиоксидантні системи. Найновіші дослідження свідчать, що багато сполук мають значну антиоксидантну дію через індукцію або регуляцію ферментів (наприклад, супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), а також через модулювання сигнальних шляхів, пов'язаних із запаленням та апоптозом [16,17,18]. Отже, перспективні антиоксиданти мають бути здатні не лише нейтралізувати вільні радикали, але й впливати на внутрішні механізми захисту клітин.

Враховуючи це, актуальність пошуку нових антиоксидантів серед тiazоловмісних гетероциклів зумовлена не лише потребою в ефективніших і безпечних агентах, але й потенціалом цього класу сполук стати основою для створення мультифункціональних фармакологічних засобів.

## Мета роботи

Систематизувати сучасні дані фахової літератури щодо механізмів антиоксидантної дії та перспектив структурного вдосконалення тiazоловмісних сполук, що дасть змогу окреслити ключові напрями подальших досліджень у цій сфері.

## Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – інформаційні наукові джерела щодо механізмів антиоксидантної дії, кореляції залежності «структура – дія» та напрямів структурного удосконалення тiazоловмісних сполук. Під час роботи застосовано комплексний підхід, що поєднував цілеспрямований інформаційний пошук у провідних міжнародних наукових базах даних з наступним системним і контент-аналізом відібраних джерел.

Системний аналіз забезпечив структуроване оцінювання результатів досліджень, враховуючи методологію, тип експериментальних моделей і способи визначення антиоксидантної активності, а контент-аналіз дав змогу виокремити повторювані наукові концепти, фармакофорні фрагменти та характерні структурні модифікації, що впливають на біологічну дію.

Наступне узагальнення та порівняльне оцінювання отриманих даних сприяли виявленню ключових закономірностей «структура – активність», визначенню ролі електронних і просторових факторів у формуванні антиоксидантного потенціалу, а також формуванню науково обґрунтованих напрямів структурної оптимізації тiazоловмісних сполук відповідно до чинних методологічних вимог до підготовки оглядових досліджень.

## Результати

**Хімічна класифікація тiazоловмісних гетероциклів, які досліджували як антиоксиданти.** Тiazоловмісні гетероцикли становлять важливий клас органічних сполук, які широко застосовують у фармацевтичній хімії. Завдяки специфічній електронній структурі, що виникає через наявність атомів сірки й азоту у п'ятичленному циклі, ці сполуки мають здатність до стабілізації радикальних проміжних форм і беруть участь у реакціях переносу електронів і протонів [19,20]. Такі властивості є ключовими для антиоксидантної активності, оскільки дають змогу молекулам ефективно нейтралізувати реактивні форми кисню (ROS) і переривати ланцюгові процеси перекисного окиснення ліпідів [21,22].

Сучасні підходи до дизайну антиоксидантів орієнтовані на створення молекул зі збалансованими фізико-хімічними та біологічними властивостями: висока радикал-спо-

вільнювальна активність, низька токсичність, хороша біодоступність і стабільність. Тiazольний каркас є перспективною платформою для таких розробок, оскільки він легко зазнає функціоналізації в різних положеннях циклу, що дає змогу отримувати серії похідних із різним механізмом дії та спектром біологічних ефектів [23,24,25].

**Базові тiazоли та їхні похідні.** Тiazол як базова гетероциклічна система має обмежену антиоксидантну активність, якщо не містить додаткових функціональних груп. Проте введення електронодонорних замісників (гідроксильних, амініних, метоксильних) суттєво підвищує здатність до захоплення радикалів. В окремих роботах показано, що похідні тiazолу з фенольними групами характеризуються високою груповою активністю у DPPH-тестах ( $IC_{50} = 25,29\text{--}42,14 \mu\text{M}$ , що було кращим за аскорбінову кислоту ( $IC_{50} = 53,49 \mu\text{M}$ ) та тролокс ( $IC_{50} = 38,01 \mu\text{M}$ )) і ABTS ( $IC_{50} = 2,50 \div 11,54 \mu\text{M}$ , для тролоксу  $IC_{50} = 15,87 \mu\text{M}$ ), що свідчить про механізм, пов'язаний із передачею водню (НАТ) та переносом електронів (SET) [12,26].

Окрім радикал-сповільнювальної активності, окремі тiazольні похідні мають значний потенціал у тесті FRAP (відношення активності сполуки / аскорбінова кислота = 74,29–85,03 %; сполуки / тролокс – 110,36–192,01 %), що свідчить про їхню здатність бути донорами електронів у редокс-системах. Це особливо важливо в аспекті терапевтичної перспективи, оскільки в організмі антиоксиданти мають не лише «поглинати» радикали, але й відновлювати окисовані біомолекули, забезпечуючи стійкість до окислативного стресу [11,27].

Важливим аспектом є також можливість створення тiazольних похідних із додатковими фармакологічними властивостями, що дає змогу отримувати мультифункціональні агенти. Наприклад, окремі тiazол-гібриди, що містять тiazольні або інші азольні фрагменти, мають одночасно антиоксидантну й антимікробну активність, що є перспективним під час розроблення комплексних терапевтичних агентів [28,29].

**Тiazолідин-4-они як карбонільні антиоксиданти.** Тiazолідин-4-они є окремою підгрупою гетероциклів, де карбонільна функція в циклі суттєво впливає на електронну структуру та реакційну здатність молекули. Наявність карбонільної групи підсилює здатність до стабілізації радикальних форм, а також відкриває можливості для утворення внутрішніх водневих зв'язків, що сприяє делокалізації електронів і підвищенню антиоксидантної активності.

У низці праць показано, що серед похідних тiazолідин-4-онів із фенольними та гідроксильними замісниками ідентифіковано окремі сполуки, що характеризуються значною антиоксидантною активністю у DPPH (% поглинання вільних радикалів = 89,61–92,55 %; для аскорбінової кислоти та тролоксу становить 77,20 % та 73,62 % відповідно), ABTS (% поглинання = 58,27–70,66; для тролоксу – 54,35 %) та FRAP (співвідношення активності (%) до аскорбінової кислоти становить 71,22–104,75)

тест-системах [14,30,31]. Це підтверджує їхній потенціал як мультифункціональних антиоксидантів, що можуть і поглинати радикали, й інгібувати ліпідну пероксидацію; це є ключовим механізмом захисту клітинних мембран від оксидативного ушкодження.

Особливу увагу привертають 5-заміщені тіазолідин-4-они, де зміна природи замісника (ароматичні, гетероароматичні, алкільні) дає змогу коригувати антиоксидантну активність і фізико-хімічні параметри (розчинність, стабільність, біодоступність). У таких сполуках часто визначають взаємозв'язок між електронною природою замісника й активністю: електронодонорні групи підвищують радикал-сповільнювальну здатність, а електроноакцепторні групи можуть знижувати її, але водночас підвищувати селективність щодо певних ROS [32,33,34].

**Гібридні та мультифункціональні тіазольні структури.** В останні роки відбувається посилення наукового інтересу до гібридних молекул, де тіазольний фрагмент поєднаний з іншими біологічно активними каркасами (тріазоли, піримідини, піразоли, халкони). Такий підхід дає змогу створювати «мультифункціональні» агенти, що поєднують антиоксидантну активність з іншими фармакологічними властивостями: протимікробною, протизапальною або протипухлинною [28,35,36,37].

У гібридних структурах важливим є не лише сумарний ефект, але й синергетична взаємодія між фрагментами, що може призводити до посилення антиоксидантної активності порівняно з окремими компонентами (табл. 1). Так, у низці праць показано, що поєднання тіазольного ядра з поліфенольними системами (наприклад, кумаринами або флавоноїдами) дає змогу досягати значного підвищення активності у DPPH-тестах (значення  $IC_{50}$  перебували в діапазоні 23,84–33,49  $\mu\text{M}$ , для аскорбінової кислоти – 50,17  $\mu\text{M}$ , для тролоксу – 36,69  $\mu\text{M}$ ) та ABTS (значення  $IC_{50}$  = 7,06–14,04  $\mu\text{M}$ , для тролоксу – 16,57  $\mu\text{M}$ ), що підтверджує концепцію «гібридних антиоксидантів» як перспективного напрямку [12,38,39].

Крім того, гібридизація відкриває можливості для отримання молекул із комбінованими властивостями. Так, антиоксидантна активність може поєднуватися з інгібуванням ферментів (наприклад, ацетилхолінестерази або ксантиноксидази), що є важливим під час розробки препаратів проти нейродегенеративних захворювань [45,46,47]. Такий підхід відповідає сучасній парадигмі «мультифункціональних» препаратів, де одна молекула одночасно впливає на кілька патофізіологічних ланок.

У перспективі гібридні тіазольні структури можуть бути використані не лише як окремі антиоксиданти, але й як молекулярні моделі для розробки нових класів фармакологічно активних агентів, що можуть забезпечувати комплексний захист клітин від оксидативного стресу, запалення та метаболічних порушень.

**Механізми антиоксидантної дії тіазоловмісних гетероциклів.** У сучасній фармакології антиоксиданти визначають не лише як «поглиначі» радикалів, але й як молекули, здатні модулювати сигнальні шляхи, фермента-

тивні каскади та генетичні механізми, що лежать в основі оксидативного стресу. У цьому контексті тіазоловмісні гетероцикли є перспективною платформою для створення мультифункціональних агентів, оскільки їхня структура дає змогу поєднувати радикал-сповільнювальну активність з іншими терапевтичними властивостями, наприклад протизапальною або нейропротекторною [48,49,50].

Однією з ключових особливостей тіазольних систем є здатність до передачі електронів через  $\pi$ -кон'юговані фрагменти, що забезпечує стабілізацію радикальних проміжних форм. Це важливо для реалізації механізму SET (single electron transfer), коли антиоксидант віддає електрон радикалу, утворюючи стабільний катіон-радикал. В окремих дослідженнях показано, що наявність електронодонорних груп (гідрокси, метокси) значно підвищує ймовірність SET-реакції, а також підвищує загальну редокс-активність молекули [51,52].

Механізм HAT (hydrogen atom transfer) залишається ключовим для тих сполук, що здатні легко віддавати протони, як-от фенольні або тіольні групи. У цьому випадку антиоксидант віддає атом водню пероксидному радикалу, перетворюючи його на менш реакційно здатну сполуку, а сам антиоксидант перетворюється на стабільний радикал, який не може продовжувати ланцюг реакції [53,54]. Такий механізм характерний для багатьох фенольних похідних тіазолу, що мають високі показники в DPPH / ABTS-тестах [11,31].

**Переривання ланцюгових реакцій ліпідної пероксидації.** Однією з найнебезпечніших форм оксидативного ушкодження є перекисне окиснення ліпідів, що призводить до дестабілізації клітинних мембран, порушення бар'єрних функцій та активації запальних каскадів. Тіазольні антиоксиданти можуть ефективно переривати ці процеси, виконуючи роль «ланцюгових інгібіторів».

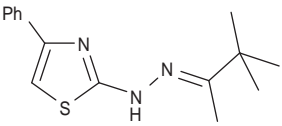
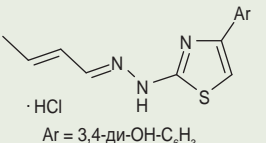
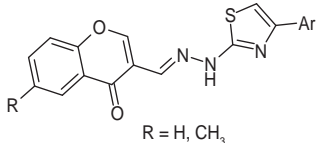
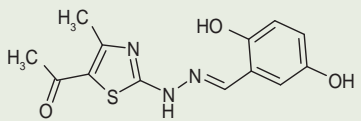
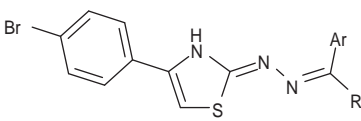
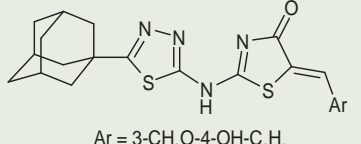
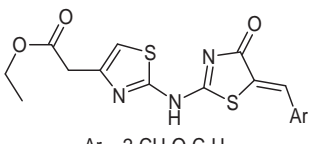
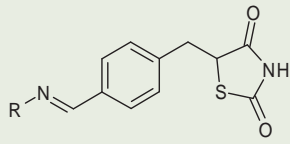
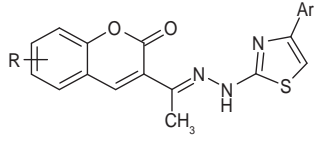
У модельованих системах ліпідної пероксидації показано, що тіазолідини з гідроксильними або фенольними замісниками можуть значно знижувати рівень TBARS, що є прямим індикатором інгібування ліпідної пероксидації [30,55]. Це робить їх перспективними кандидатами для захисту мембранних структур у клітинах, що перебувають під дією оксидативного стресу.

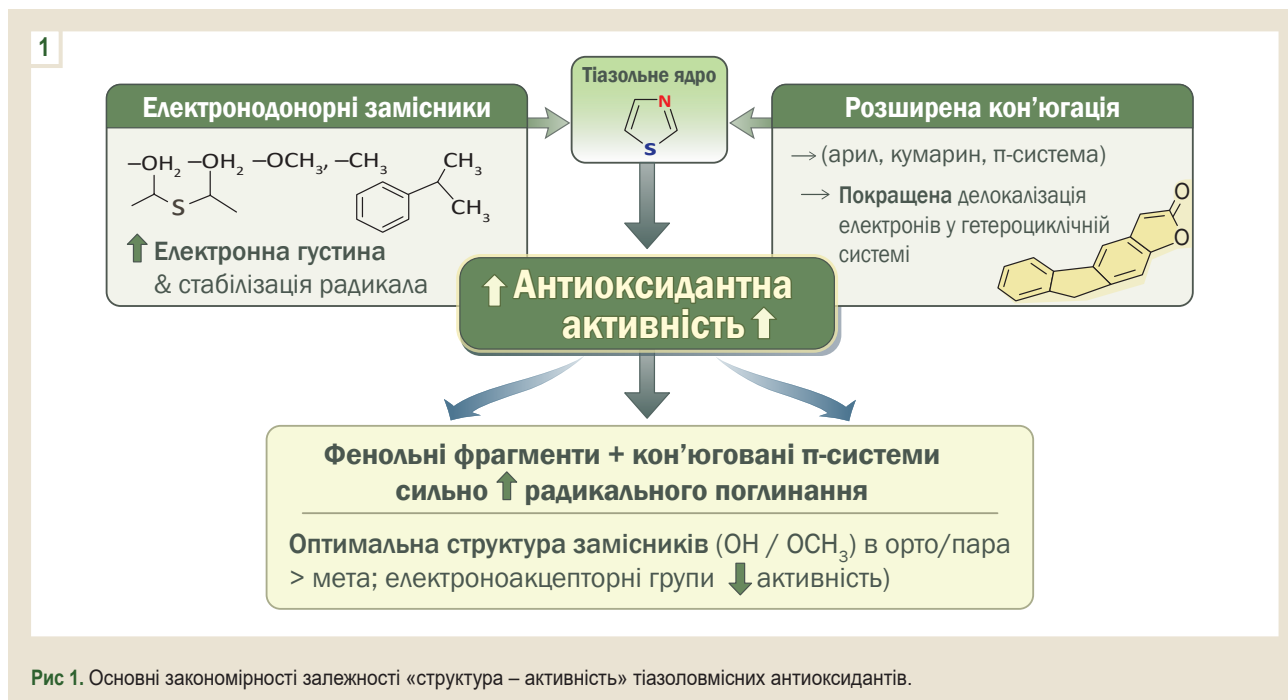
**Хелатування металів та інгібування Fenton-реакцій.** Сучасні підходи до антиоксидантної терапії все більше акцентують на контролі генерації радикалів в організмі. Оскільки одним із ключових джерел ROS є Fenton-реакції, що каталізуються залізом та іншими металами, здатність сполуки хелувати метал і знижувати їхню активність має важливе терапевтичне значення [56,57].

Тіазольні гетероцикли, що містять карбонільні, амініні або тіольні фрагменти, можуть утворювати стійкі комплекси з іонами металів, зменшуючи їхню участь у генерації ROS [58,59]. Такий механізм особливо важливий у контексті нейродегенеративних захворювань (наприклад, хвороба Альцгеймера), де накопичення металів спричиняє оксидативне ушкодження [60].

**Інгібування ферментів-генераторів ROS.** Інший важливий механізм полягає у регуляції активності ферментів,

Таблиця 1. Приклади антиоксидантної активності окремих класів тiazоловмісних сполук на різних *in vitro* тест-системах

Клас сполук	Приклади сполук	Методи оцінювання	Антиоксидантна активність (IC <sub>50</sub> або % порівняно зі стандартом)	Джерело
Базові тiazоли та їхні гідразоноаналогі		DPPH, ABTS, FRAP	Сполука має DPPH та ABTS активність, зрівняну або вищу за куркумін з відсотками (%) 37,2 (DPPH) та 32,6 (ABTS); для куркуміну – 40,1 та 30,2 відповідно. За даними дослідження методом FRAP, сполука в концентрації 100 μM мала активність на рівні 82,4 еквівалента тролоксу	V. C. Maltarollo et al., 2019 [40]
Базові тiazоли та їхні гідразоноаналогі	 Ar = 3,4-ди-ОН-С <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	DPPH, ABTS, FRAP, TAC	У результаті експериментальних досліджень встановлено, що значення IC <sub>50</sub> для цієї сполуки становлять 9,8 μM (DPPH) та 4,67 μM (ABTS), що є значно нижчі / кращі за аскорбінову кислоту (50,21 μM DPPH) та тролокс (DPPH 35,77 μM, ABTS 15,87 μM)	R-G. Antemie et al., 2025 [41]
Базові тiazоли та їхні 2-гідразонохідні / гібридні сполуки	 R = H, CH <sub>3</sub>	DPPH, ABTS	Група хромонзаміщених тiazольних гібридів мала суттєву радикал-поглинальну активність зі значеннями IC <sub>50</sub> DPPH у діапазоні 0,09–2,23 μM та IC <sub>50</sub> ABTS від 0,58 μM до 3,74 μM порівняно з аскорбіною кислотою, для якої значення IC <sub>50</sub> становили 0,33 μM (DPPH) та 0,53 μM (ABTS), відповідно	U. Salar et al., 2017 [42]
Тiazоловмісні основи Шиффа / 2-гідразонохідні		DPPH, ABTS, FRAP	Сполука показала вищу антиоксидантну активність зі значеннями IC <sub>50</sub> DPPH = 14,34 μg/ml, % ABTS = 53,64, IC <sub>50</sub> FRAP = 13,29 μM порівняно з галловою кислотою (IC <sub>50</sub> DPPH = 50 μg/ml, % ABTS = 38, IC <sub>50</sub> FRAP = 26,27 μM)	A. Jain et al., 2026 [43]
Тiazоловмісні основи Шиффа / 2-гідразонохідні		DPPH, ABTS	Сполуки характеризувалися кращою антиоксидантною активністю зі значенням IC <sub>50</sub> DPPH = 4,88–5,09 μg/ml, що можна порівняти зі стандартом BHT (5,083 μg/ml), а в протоколі ABTS значення IC <sub>50</sub> = 4,94–5,08 μg/ml	A. Ghafoor et al., 2024 [44]
4-Тiazолідини / гібридні сполуки	 Ar = 3-CH <sub>3</sub> O-4-ОН-С <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	DPPH, FRAP, TBARS	Сполука показала активність на рівні 33,98 % методом DPPH порівняно зі стандартом, а для аскорбінової кислоти цей показник становив 94,35 %. Крім того, показник у тесті FRAP становив 75 %, а у препаратів порівняння ~100 %	M. Djukic et al., 2018 [30]
4-Тiazолідини / гібридні сполуки	 Ar = 2-CH <sub>3</sub> O-С <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	DPPH, FRAP, TBARS	За результатами тестування, ця сполука мала антиоксидантну активність на рівні 62,11 % (TRABS), а препарати порівняння – аскорбінова кислота та вітамін E – 62,32 % та 36,29 % відповідно	M. Djukic et al., 2018 [30]
Похідні 5-арилідентiazолідин-2,4-діону		DPPH	Серед групи сполук виявлено серію найбільш активних, що показали значення IC <sub>50</sub> (DPPH) у діапазоні 9,18–18,02 μg/ml, що більше ніж у 2–4 рази перевищували аскорбінову кислоту (IC <sub>50</sub> = 40 μg/ml)	G. Mech et al., 2021 [32]
Базові тiazоли та їхні 2-гідразонохідні / гібридні сполуки	 Ar = 3,4-ди-ОН-С <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	DPPH, ABTS	Ці сполуки в DPPH-тесті показали нижчі / кращі значення IC <sub>50</sub> у діапазоні 23,84–33,49 μM порівняно з аскорбіною кислотою (IC <sub>50</sub> = 50,17 μM) і тролоксом (IC <sub>50</sub> = 36,69 μM). Вимірні значення IC <sub>50</sub> методом ABTS становили 7,06–14,04 μM (для тролоксу – 16,57 μM)	D. Ungureanu et al., 2025 [39]



які продукують ROS. До таких ферментів належать NADPH-оксидаза, ксантиоксидаза, мітохондріальні оксидоредуктази тощо. Окремі тіазольні сполуки можуть інгібувати ці ферменти, що призводить до зменшення продукції ROS на клітинному рівні [61,62].

Це особливо актуально для хронічних запальних процесів, де тривала активація NADPH-оксидази спричиняє підвищення рівня супероксиду та пероксинітриду, й у такий спосіб запускає каскад оксидативних ушкоджень [63]. Тому тіазольні інгібітори ферментів можуть мати додаткову терапевтичну цінність як «запобіжні» антиоксиданти.

**Модуляція ендогенних антиоксидантних систем.** Сучасна концепція антиоксидантної терапії включає не лише прямий захист від радикалів, але й активацію власних антиоксидантних механізмів організму. У цьому контексті важливим є вплив на системи глутатіону, супероксиддисмутази, каталази та ферментів відновлення NADPH.

Окремі тіазольні похідні можуть спричинити підвищення рівня глутатіону в клітинах, а також стимулювати активність ферментів антиоксидантного захисту, що сприяє тривалому захисту від оксидативного стресу [64,65]. Такий механізм є особливо важливим для терапії хронічних захворювань, коли оксидативний стрес має системний характер.

**Антиоксидантна активність як частина мультицільового ефекту.** Зауважимо, що в сучасній фармацевтичній хімії дедалі більше уваги приділяють мультицільовим молекулам, що одночасно впливають на кілька патофізіологічних процесів. Тіазольні гетероцикли є оптимальною платформою для такого підходу, оскільки їхня структура дає змогу поєднувати антиоксидантну активність із протизапальними, нейропротекторними, антимікробними та/або противірусними властивостями [49,66,67]. Це відкри-

ває перспективи для створення препаратів, що можуть одночасно зменшувати оксидативний стрес, пригнічувати запалення та підтримувати клітинний метаболізм; це особливо важливо під час лікування комплексних хронічних захворювань.

**Структура – активність (SAR) тіазоловмісних антиоксидантів.** Встановлення залежності «структура – дія» (SAR) є ключовим для розуміння того, як саме хімічна структура тіазоловмісних сполук визначає їхню антиоксидантну здатність. Щодо радикал-сповільнювальних агентів, SAR не обмежується лише наявністю «антиоксидантних» функціональних груп. Важливу роль відіграють електронна структура, кон'югація, протонна стабільність, можливість резонансної делокалізації, а також фізико-хімічні параметри, що визначають біодоступність і взаємодію з біомолекулами [68,69]. У цьому контексті тіазольні гетероцикли є перспективними, оскільки їхня структура дає змогу поєднувати електронодонорні та електроноакцепторні фрагменти, створюючи молекули з високою редокс-активністю та стабільністю.

**Електронна природа замісників та її вплив на редокс-активність (рис. 1).** Одним із найважливіших факторів, що визначають антиоксидантну активність, є електронна природа замісників. Електронодонорні групи ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{NH}_2$ , алкіли) посилюють здатність молекули видавати протон або електрон, що сприяє реалізації механізмів HAT (hydrogen atom transfer) та SET (single electron transfer). У тіазольних і споріднених системах фенольні або амінні фрагменти часто є основними «антиоксидантними ядрами», що визначають високі показники в DPPH/ABTS-тестах [12,67,70].

З іншого боку, електроноакцепторні групи ( $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CF}_3$ , галогени) можуть зменшувати здатність до передачі водню, але при цьому підвищувати стабільність радикальних

проміжків і біостабільність сполук [71]. Такі модифікації іноді корелюють з кращою фармакокінетикою та зменшенням небажаної реактивності у біологічних системах. Тому в практичному дизайні антиоксидантів часто використовують комбінацію донорних та акцепторних фрагментів, щоб досягти балансу між активністю та безпекою [72].

**Роль фенольних і тіольних фрагментів у тіазольних системах.** Фенольні групи є класичними елементами антиоксидантів через здатність утворювати стабільні фенокисильні радикали. У тіазольних сполуках фенольні фрагменти можуть бути введені як частина конденсованих або «гібридних» структур, що дає змогу поєднувати антиоксидантну активність з іншими фармакологічними ефектами. Зокрема, *para*- та *ortho*-гідроксильні замісники підвищують стабільність радикала через резонансну делокалізацію, що позитивно корелює з активністю у тестах DPPH та ABTS [11,39].

Тіольні фрагменти також можуть бути важливими для антиоксидантної активності, оскільки вони можуть передавати атом водню з формуванням стабільних тіорадикалів. Такі сполуки можуть бути ефективні у захисті сульфгідрильних груп білків та в механізмах, пов'язаних із редокс-балансом у клітині [73,74]. При цьому тіольні фрагменти часто характеризуються вищою реактивністю, що може потребувати оптимізації для зменшення токсичності та підвищення селективності.

**Кон'югація,  $\pi$ -система та стабілізація радикала.** Кон'югація в молекулі сприяє делокалізації електронів і стабілізації радикальних проміжків. У тіазольних системах це досягається через введення  $\alpha,\beta$ -ненасичених фрагментів, поліароматичних систем або конденсацію з іншими гетероциклами. Підвищена кон'югація часто корелює з більшою антиоксидантною активністю у SET-тестах (FRAP, CUPRAC), оскільки делокалізація зменшує енергію утворення радикала [75,76].

Важливо враховувати, що занадто висока кон'югація може підвищувати ліпофільність, що негативно впливає на розчинність і біодоступність. Тому оптимальний дизайн передбачає баланс між кон'югацією та фізико-хімічними властивостями.

**Гібридизація: мультифункціональні молекули як майбутнє антиоксидантного дизайну.** Гібридизація тіазольного ядра з іншими антиоксидантними фрагментами (поліфенольними, азольними, індоольними, піримідиновими тощо) є одним із найперспективніших напрямів. Такий підхід дає змогу поєднувати різні механізми дії, наприклад, NAT + metal chelation + anti-inflammatory, що важливо для лікування багатофакторних патологій, пов'язаних із оксидативним стресом [77,78].

У гібридних структурах часто визначають синергічний ефект, коли загальна активність перевищує сумарний ефект окремих фрагментів. Це може бути пов'язано з посиленням електронної делокалізації, оптимізацією розподілу заряду та підвищенням стабільності радикальних проміжків [79]. Саме тому гібридизацію визначають як один із ключових напрямів під час розробки нових

антиоксидантів, що одночасно можуть бути нейро-, кардіопротекторами або протизапальними агентами [80,81].

**QSAR і комп'ютерне моделювання як інструмент прискорення дизайну.** Сучасні підходи дедалі більше залежать від QSAR-моделювання та молекулярного дизайну, що дає змогу прогнозувати активність до синтезу. В QSAR враховують фізико-хімічні параметри (logP, електронна щільність, HOMO-LUMO, атомні заряди), що корелюють з антиоксидантною активністю. Такі моделі дають можливість обирати найбільш перспективні структури та значно скорочувати експериментальні витрати.

Особливо важливо, що QSAR-підходи дають змогу моделювати не лише активність, але й біодоступність, токсичність і метаболічну стабільність, що є критичним для переведення молекул з *in vitro* в *in vivo* [82,83]. Це підкреслює необхідність комплексного підходу, де SAR доповнений комп'ютерними методами.

**Практичні імплікації SAR для дизайну нових антиоксидантів.** У практичному аспекті SAR-аналіз дає змогу визначити оптимальні стратегії модифікації тіазольних антиоксидантів. Зокрема, йдеться про підвищення донорної здатності через введення фенольних або амінних груп; оптимізацію кон'югації для стабілізації радикала без надмірного підвищення ліпофільності; гібридизацію з іншими антиоксидантними ядрами для мультифункціональної дії; баланс електронних ефектів шляхом комбінування донорних та акцепторних фрагментів для контролю реактивності та селективності; використання QSAR для прогнозу активності та оптимізації властивостей ще на етапі дизайну.

**Перспективи структурної модифікації та оптимізації тіазоловмісних сполук як антиоксидантів.** З огляду на сучасні концепції молекулярних механізмів розвитку патологій, що асоційовані з оксидативним стресом, стратегія створення нових антиоксидантів зазнає суттєвої трансформації. Пріоритет нині віддають не ізольованому підвищенню радикал-поглинальної здатності, а комплексній оптимізації структури молекул, враховуючи мультифакторну природу захворювань, фармакокінетичні обмеження та трансляційний потенціал [84,85]. У цьому контексті тіазоловмісні гетероцикли є універсальними молекулярними платформами, що придатні до тонкого структурного налаштування та функціональної диверсифікації.

Надалі розвиток цього класу сполук логічно пов'язаний із застосуванням інтегративних підходів medicinal chemistry, що поєднують хімічний дизайн, біологічне оцінювання та фармакологічну оптимізацію. Саме така стратегія дає змогу трансформувати перспективні *in vitro* антиоксиданти у фармакологічно релевантні кандидати.

**Мультифункціональні підходи: антиоксидантна дія як складова поліфармакологічного профілю.** Накопичені експериментальні та клінічні дані підтверджують, що оксидативний стрес рідко є єдиним патогенетичним чинником. У більшості випадків він тісно інтегрований у мережу таких взаємопов'язаних процесів, як хронічне запалення, порушення редокс-сигналіngu, дисфункція мі-

тохондрій та активація програмованої клітинної загибелі [86]. У зв'язку з цим дедалі більшого значення набуває концепція мультифункціональних молекул, що можуть одночасно впливати на кілька ключових патогенетичних ланок [87,88].

Тіазольний скелет є особливо придатним для реалізації таких підходів, оскільки має оптимальні електронні та просторові характеристики. Його включення до складу молекули створює передумови для поєднання антиоксидантної активності з протизапальними, цитопротекторними або нейропротекторними ефектами [36,49,89]. Важливо, що така комбінація дій не лише посилює фармакологічний ефект, але й потенційно зменшує дозозалежну токсичність внаслідок синергії механізмів.

У нейродегенеративних моделях особливу увагу привертає здатність тіазоловмісних антиоксидантів модулювати мітохондріальну функцію, стабілізувати мембранний потенціал і зменшувати накопичення реактивних форм кисню в нейронах [41,90]. Поєднання цих ефектів із впливом на нейрозапальні каскади створює основу для розроблення нових нейропротекторних агентів із розширеним терапевтичним профілем.

**Prodrug-стратегії: подолання фармакокінетичних бар'єрів.** Незважаючи на значний біологічний потенціал, багато тіазоловмісних антиоксидантів характеризуються обмеженою водорозчинністю, недостатньою пероральною біодоступністю або швидким метаболічним кліренсом. У цьому контексті prodrug-стратегії визначають як один із найбільш ефективних інструментів оптимізації фармакокінетичних властивостей без втрати фармакофорної ідентичності [91,92].

Застосування проліків дає змогу адаптувати фізико-хімічні характеристики молекул до вимог біологічних систем, зберігаючи при цьому їхній антиоксидантний потенціал. Метаболічна активація у тканинах-мішенях забезпечує контрольоване вивільнення активної форми, що є особливо важливим для тривалих хронічних терапій [93,94]. Такий підхід відкриває перспективи для створення тіазольних антиоксидантів із покращеним профілем безпеки та більш передбачуваною фармакодинамікою.

**Гібридні молекули як стратегія підвищення біологічної ефективності.** Одним із найбільш інноваційних напрямів сучасного хімічного дизайну є створення гібридних молекул, у яких тіазольний скелет поєднується з іншими фармакологічно значущими фрагментами [95,96]. Такий підхід дає змогу інтегрувати різні механізми антиоксидантної дії в межах однієї структури, що істотно підвищує ефективність у складних біологічних системах.

Гібридизація тіазольного ядра з фрагментами, що можуть бути донорами електронів або стабілізувати радикали, сприяє реалізації комбінованих механізмів радикал-сповільнення [97]. Крім того, такі молекули можуть показати нові фармакологічні властивості, що не характерні для окремих компонентів; це особливо важливо в аспекті пошуку інноваційних терапевтичних рішень [98,99].

**Оптимізація фармакокінетичних характеристик як ключ до трансляції.** Успішне впровадження тіазоловмісних антиоксидантів у доклінічну та клінічну практику неможливе без цілеспрямованої оптимізації фармакокінетичних параметрів. Регулювання ліпофільності, полярної поверхні та метаболічної стабільності дає змогу суттєво впливати на абсорбцію, розподіл і тривалість дії сполук [100,101].

Поєднання експериментальних досліджень з *in silico* моделюванням і QSAR-аналізом створює передумови для раціонального дизайну тіазольних антиоксидантів із прогнозованими властивостями. Такий інтегративний підхід відповідає сучасним європейським стандартам drug discovery та значно підвищує шанси на успішне впровадження нових сполук у фармакологічну практику [102,103].

Отже, перспективи структурної модифікації тіазоловмісних антиоксидантів виходять далеко за межі класичної оптимізації радикал-поглинальної активності. Мультифункціональний дизайн, застосування prodrug-стратегій, створення гібридних молекул і фармакокінетична оптимізація формують комплексну платформу для розробки інноваційних біоактивних субстанцій нового покоління. Саме такий підхід дає підстави визначити тіазольні гетероцикли як один із найбільш перспективних і досліджуваних класів сполук у сучасному пошуку ефективних антиоксидантних агентів.

**Ключові виклики та перспективні напрями пошуку потенційних антиоксидантів серед тіазоловмісних сполук.** Незважаючи на стрімке посилення інтересу до тіазоловмісних гетероциклів як перспективних антиоксидантних агентів, розвиток цього напрямку супроводжується низкою фундаментальних і прикладних проблем. Вони включають і методологічні аспекти досліджень, і питання трансляції отриманих результатів у фармацевтичну та харчову практику. Критичний аналіз сучасних обмежень та визначення стратегічних напрямів подальших досліджень є необхідною умовою для формування цілісної та конкурентоспроможної наукової платформи.

Особливо критичним залишається дефіцит систематичних *in vivo* досліджень для тіазоловмісних антиоксидантів. На відміну від добре охарактеризованих природних поліфенолів і флавоноїдів, для яких накопичено значний масив фармакокінетичних і токсикологічних даних, лише обмежена кількість тіазоловмісних похідних пройшла базове оцінювання безпеки та біодоступності в експериментальних моделях. У більшості випадків наявні дані обмежуються *in vitro* тестами антиоксидантної активності, що істотно ускладнює обґрунтоване оцінювання їхнього трансляційного потенціалу.

**Обмеження сучасних досліджень: фрагментарність даних і дефіцит *in vivo* доказів.** Однією з найбільш суттєвих проблем сучасних досліджень тіазоловмісних антиоксидантів є виражена фрагментарність. Більшість наукових праць зосереджена на синтезі обмежених серій сполук і первинному оцінюванні антиоксидантної активності за допомогою стандартних *in vitro* тестів. Хоча такий підхід

дає змогу швидко ідентифікувати активні структури, він часто не враховує складності біологічних систем і не дає змоги зробити обґрунтовані висновки щодо фармакологічної релевантності отриманих результатів.

Особливо критичним залишається дефіцит систематичних *in vivo* досліджень, які могли б підтвердити антиоксидантну ефективність тіазоловмісних сполук у фізіологічно релевантних умовах. Оскільки досі немає комплексних даних щодо біодоступності, метаболізму, розподілу в тканинах і тривалості дії, перехід від експериментальних моделей до доклінічного оцінювання ускладнений. У багатьох випадках перспективні *in vitro* результати не знаходять підтвердження в тваринних моделях, що підкреслює необхідність більш збалансованого підходу до планування досліджень.

**Необхідність стандартизації антиоксидантних тестів і відтворюваності результатів.** Важливою проблемою для всієї галузі є відсутність уніфікованих підходів до оцінювання антиоксидантної активності. Застосування різних експериментальних методик, умов виконання тестів, концентрацій досліджуваних сполук і стандартів порівняння спричиняє значну варіабельність результатів. Унаслідок цього ускладнене не лише порівняння даних, що отримані у різних дослідженнях, але й формування надійних структурно-активнісних залежностей.

Впровадження стандартизованих панелей тестів, які поєднують хімічні, клітинні та біохімічні методи, могло б суттєво підвищити якість і відтворюваність результатів. Такий підхід відповідає сучасним європейським тенденціям у галузі біомедичних досліджень і створює основу для формування репрезентативних баз даних, необхідних для наступного використання *in silico* інструментів та машинного навчання.

**Комп'ютерне моделювання та штучний інтелект (ШІ) у дизайні тіазоловмісних антиоксидантів.** Згідно з результатами сучасних наукових досліджень, штучний інтелект і комп'ютерне моделювання вже активно застосовують у дизайні нових біоактивних сполук, включаючи ті, що мають потенційну антиоксидантну дію [104,105]. Такі алгоритми машинного навчання дають змогу аналізувати великі масиви експериментальних даних, прогнозувати антиоксидантну активність, токсичність і фармакокінетичні параметри ще на етапі віртуального скринінгу.

Інтеграція QSAR-аналізу, молекулярного докінгу та ШІ-підходів відкриває можливості для раціонального дизайну тіазоловмісних сполук з оптимізованим біологічним профілем [106,107]. Такий підхід не лише скорочує тривалість і вартість досліджень, але й дає змогу зменшити кількість експериментальних помилок, сприяючи переходу від емпіричного синтезу до прогнозованого та керованого процесу створення нових молекул.

**Перспективи впровадження у фармацевтичні та харчові продукти.** Крім фундаментального значення, тіазоловмісні антиоксиданти мають істотний потенціал для практичного застосування. У фармацевтичному контексті їх можуть визначити як основу для створення нових терапевтичних

агентів, спрямованих на корекцію оксидативного стресу при хронічних і дегенеративних захворюваннях. Водночас посилюється інтерес до їх використання у складі функціональних харчових продуктів, нутрицевтиків і біологічно активних добавок. Реалізація такого потенціалу потребує комплексного оцінювання безпеки, стабільності та регуляторного статусу відповідних сполук. Здатність тіазольних гетероциклів до структурної оптимізації відкриває широкі можливості для створення продуктів із контрольованим біологічним ефектом і прогнозованим профілем безпеки. У цьому контексті міждисциплінарна взаємодія між хіміками, фармакологами, технологіями та фахівцями з регуляторних питань набуває ключового значення.

## Висновки

1. Тіазоловмісні гетероцикли формують широкий спектр структурних систем, які відрізняються за електронною будовою та механізмами антиоксидантної дії. Кожен підклас – від базових тіазолів до карбонільних тіазолідин-2-онів і складних гібридних систем – має власні переваги і перспективи для оптимізації.

2. Механізми антиоксидантної дії тіазоловмісних гетероциклів є багатовимірними і включають пряме захоплення радикалів, переривання ліпідної пероксидації, хелатування металів, інгібування ферментів-генераторів ROS та активацію ендогенних антиоксидантних систем.

3. SAR-аналіз тіазоловмісних антиоксидантів показав, що антиоксидантна активність залежить від сукупності факторів: електронної природи замісників, наявності фенольних / тіольних фрагментів, рівня кон'югації, можливості гібридизації та фізико-хімічних параметрів, що визначають біодоступність.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальший прогрес у дослідженні тіазоловмісних антиоксидантів визначається здатністю подолати методологічні обмеження та інтегрувати сучасні підходи до дизайну й оцінювання біоактивних сполук. Стандартизація експериментальних методів, розширення *in vivo* досліджень, активне використання комп'ютерного моделювання та орієнтація на трансляційний потенціал формують стратегічні напрями розвитку цієї галузі.

---

## Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» на тему: «Молекулярно-орієнтований дизайн нових антиоксидантів на основі тіазоловмісних гетероциклів і флавоноїдів», державний реєстраційний № 0126U001841, що профінансоване МОЗ України за кошти державного бюджету.

---

## Подяки

Автори висловлюють щирю подяку Збройним силам України за можливість здійснювати дослідження та редакції наукового журналу за можливість публікувати їхні результати. Також автори вдячні МОЗ України за фінансову підтримку під час виконання дослідження.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

#### Відомості про авторів:

Чабан Т. І., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної, біоорганічної, фізикоїдної хімії, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: [0000-0003-0618-275X](https://orcid.org/0000-0003-0618-275X)

Лелюх М. І., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8123-0988](https://orcid.org/0000-0002-8123-0988)

Чуловська У. Б., канд. мед. наук, доцент каф. фізіотерапії і пульмонології, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: [0009-0007-7280-3098](https://orcid.org/0009-0007-7280-3098)

Чабан І. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5146-5655](https://orcid.org/0000-0002-5146-5655)

Огурцов В. В., канд. фарм. наук, доцент каф. загальної, біоорганічної, фізикоїдної хімії, ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Україна.

ORCID ID: [0000-0001-9254-8337](https://orcid.org/0000-0001-9254-8337)

#### Information about the authors:

Chaban T. I., PhD, Associate Professor of the Department of General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, State Nonprofit Company "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Ukraine.

Lelyukh M. I., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, State Nonprofit Company "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Ukraine.

Chulovska U. B., MD, PhD, Associate Professor, Department of Phthysiology and Pulmonology, State Nonprofit Company "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Ukraine.

Chaban I. H., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, State Nonprofit Company "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Ukraine.

Ogurtsov V. V., PhD, Associate Professor of the Department of General, Bioinorganic, Physical and Colloidal Chemistry, State Nonprofit Company "Danylo Halytsky Lviv National Medical University", Ukraine.



Мар'ян Лелюх (Maryan Lelyukh)  
[lelyukh.m@gmail.com](mailto:lelyukh.m@gmail.com)

#### References

- Gao Q, Jiang L, Sun Y, An X, Sun W, Tang S, et al. Oxidative stress: from molecular studies to clinical intervention strategies. *Front Mol Biosci.* 2025;12:1638042. doi: [10.3389/fmols.2025.1638042](https://doi.org/10.3389/fmols.2025.1638042)
- Hajam YA, Rani R, Ganie SY, Sheikh TA, Javaid D, Qardi SS, et al. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells.* 2022;11(3):552. doi: [10.3390/cells11030552](https://doi.org/10.3390/cells11030552)
- Otani H. Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(7):1911-26. doi: [10.1089/ars.2010.3739](https://doi.org/10.1089/ars.2010.3739)
- Hirata Y. [Reactive Oxygen Species (ROS) Signaling: Regulatory Mechanisms and Pathophysiological Roles]. *Yakugaku Zasshi.* 2019;139(10):1235-41. Japanese. doi: [10.1248/yakushi.19-00141](https://doi.org/10.1248/yakushi.19-00141)
- Sikder MM, Li X, Akumwami S, Labony SA. Reactive Oxygen Species: Role in Pathophysiology, and Mechanism of Endogenous and Dietary Antioxidants during Oxidative Stress. *Chonnam Med J.* 2025;61(1):32-45. doi: [10.4068/cmj.2025.61.1.32](https://doi.org/10.4068/cmj.2025.61.1.32)
- Żyżelewicz D, Oracz J. Bioavailability and Bioactivity of Plant Antioxidants. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(12):2336. doi: [10.3390/antiox11122336](https://doi.org/10.3390/antiox11122336)
- Abourashed EA. Bioavailability of plant-derived antioxidants. *Antioxidants.* 2013;2(4):309-25. doi: [10.3390/antiox2040309](https://doi.org/10.3390/antiox2040309)
- Saad AM, Mohammed DM, Alkafaas SS, Ghosh S, Negm SH, Saleem HM, et al. Dietary polyphenols and human health: sources, biological activities, nutritional and immunological aspects, and bioavailability- a comprehensive review. *Front Immunol.* 2025;16:1653378. doi: [10.3389/fimmu.2025.1653378](https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1653378)
- Sotler R, Poljšak B, Dahmane R, Jukić T, Jukić DP, Rotim C, et al. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clin Croat.* 2019;58(4):726-36. doi: [10.20471/acc.2019.58.04.20](https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.04.20)
- Ashrafpour S, Ashrafpour M. The double-edged sword of nutraceuticals: Comprehensive review of protective agents and their hidden risks. *Front Nutr.* 2025;12:1524637. doi: <http://org.doi.10.3389/fnut.2025.1524627>
- Marc G, Stana A, Franchini AH, Vodnar DC, Barta G, Tertis M, et al. Phenolic thiazoles with antioxidant and antiradical activity. Synthesis, *in vitro* evaluation, toxicity, electrochemical behavior, quantum studies and antimicrobial screening. *Antioxidants* 2021; 10(11):1707. doi: [10.3390/antiox10111707](https://doi.org/10.3390/antiox10111707)
- Cornea AC, Marc G, Ionuț I, Moldovan C, Stana A, Oniga SD, et al. Synthesis, characterization, and antioxidant activity evaluation of new *N*-methyl substituted thiazole-derived polyphenolic compounds. *Molecules.* 2025;30(6):1345. doi: [10.3390/molecules30061345](https://doi.org/10.3390/molecules30061345)
- Sena K, Mendes R, Bótelho EX, Araújo-Melo RO, Silva C, Júnior H, et al. Antibacterial and antibiofilm activities of thiazolidine-2,4-dione and 4-thioxo-thiazolidin-2-one derivatives against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Appl Microbiol.* 2022;133(6):3558-72. doi: [10.1111/jam.15790](https://doi.org/10.1111/jam.15790)
- Kumar H, Aggarwal N, Marwaha MG, Deep A, Chopra H, Matin MM, et al. Thiazolidin-2,4-dione scaffold: An insight into recent advances as antimicrobial, antioxidant, and hypoglycemic Agents. *Molecules.* 2022;27(19):6763. doi: [10.3390/molecules27196763](https://doi.org/10.3390/molecules27196763)
- Chilamakuru NB, Neelima S, Supriya G, Sarvesha E, Devi SR, Maheswari MU, et al. A review of thiazolidinones: Versatile heterocycles with promising therapeutic potential. *Orient J Chem.* 2025;41(1):30-43. doi: <https://dx.doi.org/10.13005/ojc/410104>
- Obeme-Nmom JI, Abioye RO, Reyes Flores SS, Udenigwe CC. Regulation of redox enzymes by nutraceuticals: A review of the roles of antioxidant polyphenols and peptides. *Food Funct.* 2024;15(22):10956-80. doi: [10.1039/D4FO03549F](https://doi.org/10.1039/D4FO03549F)
- Chandimali N, Bak SG, Park EH, Lim HJ, Won YS, Kim EK, et al. Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: a review. *Cell Death Discov.* 2025;11(1):19. doi: [10.1038/s41420-024-02278-8](https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8)
- Altanam SY, Darwish N, Bakillah A. Exploring the interplay of antioxidants, inflammation, and oxidative stress: Mechanisms, therapeutic potential, and clinical implications. *Desiases.* 2025;13(9):309. doi: [10.3390/diseases13090309](https://doi.org/10.3390/diseases13090309)
- Abdulrahman BS, Nadr RB, Omer RA, Rashid RF, Pandey VK. A Review of synthesis, antioxidant, and antimicrobial activities of new thiazole derivatives. *Chem Rev Lett.* 2025;8(4):720-40. doi: [10.22034/crl.2025.504852.1537](https://doi.org/10.22034/crl.2025.504852.1537)
- Geronikaki AA, Pitta EP, Liaras KS. Thiazoles and thiazolidinones as antioxidants. *Curr Med Chem.* 2013;20(36):4460-80. doi: [10.2174/09298673113209990143](https://doi.org/10.2174/09298673113209990143)
- Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwaseel SH, Nepovimova E, Kuca K, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol.* 2023;97(10):2499-574. doi: [10.1007/s00204-023-03562-9](https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9)
- Valgimigli L. Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection. *Biomolecules.* 2023;13(9):1291. doi: [10.3390/biom13091291](https://doi.org/10.3390/biom13091291)
- Petrou A, Fesatidou M, Geronikaki A. Thiazole Ring-A Biologically Active Scaffold. *Molecules.* 2021;26(11):3166. doi: [10.3390/molecules26113166](https://doi.org/10.3390/molecules26113166)
- Arshad MF, Alam A, Alshammari AA, Alhazza MB, Alzimam IM, Alam MA, et al. Thiazole: A Versatile Standalone Moiety Contributing to the Development of Various Drugs and Biologically Active Agents. *Molecules.* 2022;27(13):3994. doi: [10.3390/molecules27133994](https://doi.org/10.3390/molecules27133994)
- Kushwaha P, Pandey S. 1,3-Thiazole Derivatives as a Promising Scaffold in Medicinal Chemistry: A Recent Overview. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2023;22(3):133-63. doi: [10.2174/0118715230276678231102150158](https://doi.org/10.2174/0118715230276678231102150158)
- Kirkova D, Statkova-Abeghe S, Docheva M, Stremski Y, Minkova S. Structure-activity relationship of *in vitro* radical-scavenging activity of 2-(hydroxyphenyl) benzothiazole derivatives. *Bulg Chem Commun.* 2020;52(D):196-200. Available from: [https://bcc.bas.bg/BCC\\_Volumes/Volume\\_52\\_Special\\_D\\_2020/BCC-52-D-2020-196-200-Kirkova-C02.pdf](https://bcc.bas.bg/BCC_Volumes/Volume_52_Special_D_2020/BCC-52-D-2020-196-200-Kirkova-C02.pdf)
- Dincel ED, Gürsoy E, Yılmaz-Ozden T, Ulusoy-Güzeldemirci N. Antioxidant activity of novel imidazo[2,1-b]thiazole derivatives: Design,

- synthesis, biological evaluation, molecular docking study and *in silico* ADME prediction. *Bioorg Chem.* 2020;103:104220. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.104220](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104220)
28. Matta R, Pochampally J, Dhoddi BN, Bhookya S, Bitla S, Akkiraju AG. Synthesis, antimicrobial and antioxidant activity of thiazole, pyrazole containing thiazole derivatives and molecular docking studies on COVID-19. *BMC Chem.* 2023;17(1):61. doi: [10.1186/s13065-023-00965-8](https://doi.org/10.1186/s13065-023-00965-8)
29. Chander M, Sharma D, Sharma PK, Ram S. Synthesis and biological evaluation of novel benzenesulfonamide incorporated thiazole-triazole hybrids as antimicrobial and antioxidant agents. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2024;357(3):e2300650. doi: [10.1002/ardp.202300650](https://doi.org/10.1002/ardp.202300650)
30. Djukic M, Fesatidou M, Xenikakis I, Geronikaki A, Angelova VT, Savic V, et al. *In vitro* antioxidant activity of thiazolidinone derivatives of 1,3-thiazole and 1,3,4-thiadiazole. *Chem Biol Interact.* 2018;286:119-31. doi: [10.1016/j.cbi.2018.03.013](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.03.013)
31. Marc G, Stana A, Oniga SD, Pîrnău A, Vlase L, Oniga O. New Phenolic Derivatives of Thiazolidine-2,4-dione with Antioxidant and Antiradical Properties: Synthesis, Characterization, *In Vitro* Evaluation, and Quantum Studies. *Molecules.* 2019;24(11):2060. doi: [10.3390/molecules24112060](https://doi.org/10.3390/molecules24112060)
32. Mech D, Kurowska A, Trotsko N. The Bioactivity of Thiazolidin-4-Ones: A Short Review of the Most Recent Studies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11533. doi: [10.3390/ijms222111533](https://doi.org/10.3390/ijms222111533)
33. Al Zahrani NA, Alshabibi MA, Bakr AA, Almughem FA, Alshehri AA, Al-Chamdi HA, et al. Molecular hybrids of thiazolidinone: Bridging redox modulation and cancer therapy. *Int J Mol Sci.* 2025;26(13):6529. doi: [10.3390/ijms26136529](https://doi.org/10.3390/ijms26136529)
34. Malik N, Singh RK. Advances in 5-ene-2,4-thiazolidinediones research: Multifaceted biological profile, structure-activity relationship, and mechanisms of action. *Arch Pharm.* 2025;358(7):e70023. doi: [10.1002/ardp.70026](https://doi.org/10.1002/ardp.70026)
35. Maghraby MT, Abou-Ghadir O, Abdel-Moty SG, Ali AY, Salem O. Novel class of benzimidazole-thiazole hybrids: The privileged scaffolds of potent anti-inflammatory activity with dual inhibition of cyclooxygenase and 15-lipoxygenase enzymes. *Bioorg Med Chem.* 2020;28(7):115403. doi: [10.1016/j.bmc.2020.115403](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115403)
36. Patil SM, Kamble O, Asgaonkar K, Bhandari S, Chitre T, Rathod V, et al. Design and development of pyrazole-thiazole hybrid derivatives as anti-inflammatory and anti-oxidant agents. *J Mol Struct.* 2026;1353(2):144688. doi: [10.1016/j.molstruc.2025.144688](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2025.144688)
37. Kasetti AB, Singhvi I, Nagasuri R, Bhandare R, Bhandare RR, Shaik AB. Thiazole-chalcone hybrids as prospective antitubercular and antiproliferative agents: Design, synthesis, biological, molecular docking studies and *in silico* ADME evaluation. *Molecules.* 2021;26(10):2847. doi: [10.3390/molecules26102847](https://doi.org/10.3390/molecules26102847)
38. Osman H, Arshad A, Lam CK, Bagley MC. Microwave-assisted synthesis and antioxidant properties of hydrazinyl thiazolyl coumarin derivatives. *Chem Cent J.* 2012;6(1):32. doi: [10.1186/1752-153X-6-32](https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-32)
39. Ungureanu D, Marc G, Tiperchiu B, Moldovan C, Ionut I, Stana A, et al. Novel 3,4-dihydroxyphenyl-thiazole-coumarin hybrid compounds: Synthesis, *in silico* and *in vitro* evaluation of their antioxidant activity. *Antioxidants* 2025;14(6):636. doi: [10.3390/antiox14060636](https://doi.org/10.3390/antiox14060636)
40. Maltarollo VG, Resende MF, Kronenberger T, Lino CI, Sampaio M, Pitta M, et al. *In vitro* and *in silico* studies of antioxidant activity of 2-thiazolylhydrazone derivatives. *J Mol Graph Model.* 2019;86:106-12. doi: [10.1016/j.jmgm.2018.10.007](https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.10.007)
41. Antemie RG, Marc G, Pele R, Fizeşan I, Creştin IV, Borlan R, et al. Antioxidant Activity and Cytotoxicity Evaluation of New Catechol Hydrazinyl-Thiazole Derivatives as Potential Protectors in Retinal Degenerative Processes. *Antioxidants (Basel)*. 2025;14(6):646. doi: [10.3390/antiox14060646](https://doi.org/10.3390/antiox14060646)
42. Salar U, Khan KM, Chigurupati S, Taha M, Wadood A, Vijayabalan S, et al. New Hybrid Hydrazinyl Thiazole Substituted Chromones: As Potential  $\alpha$ -Amylase Inhibitors and Radical (DPPH & ABTS) Scavengers. *Sci Rep.* 2017;7(1):16980. doi: [10.1038/s41598-017-17261-w](https://doi.org/10.1038/s41598-017-17261-w)
43. Jahan R, Marufa SS, Rahman MM, Karmokar S, Das M, Sultan MI, et al. Synthesis, Antimicrobial and Antioxidant Activity With ADMET Prediction, Molecular Docking, and Dynamics Studies of Novel Thiazole-Schiff Base Derivatives. *Chem Biodivers.* 2025;22(12):e00888. doi: [10.1002/cbdv.202500888](https://doi.org/10.1002/cbdv.202500888)
44. Jain A, Narsinghani T. Synthesis, docking studies and antimicrobial and antioxidant activity of thiazole Schiff base derivatives. *Int J Pharm Sci Res.* 2026;17(2):529-42. doi: [10.13040/IJPSR.0975-8232.17\(2\).529-42](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.17(2).529-42)
45. Ghafoor A, Rafia Hassan H, Ismail M, Mahmood Ahmed Malik W, Afaq S, Nawaz H, et al. Synthesis, characterization and molecular docking studies of bioactive 1,3-Thiazoles as promising antibacterial and antioxidant agents. *Results Chem.* 2024;7(101328):101328. doi: [10.1016/j.rechem.2024.101328](https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101328)
46. Cruz I, Puthongking P, Cravo S, Palmeira A, Cidade H, Pinto M, et al. Xanthone and flavone derivatives as dual agents with acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity as potential anti-Alzheimer agents. *J Chem.* 2017;2017:1-16. doi: [10.1155/2017/8587260](https://doi.org/10.1155/2017/8587260)
47. Shukor N, Ablat A, Muhamad NA, Mohamad J. *In vitro* antioxidant and *in vivo* xanthine oxidase inhibitory activities of *Pandanus amaryllifolius* in potassium oxonate-induced hyperuricemic rats. *Int J Food Sci Technol.* 2018;53(6):1476-85. doi: [10.1111/ijfs.13728](https://doi.org/10.1111/ijfs.13728)
48. Ahammed S, Afrin R, Uddin N, Al-Amin Y, Hasan K, Haque U, et al. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activity of the compounds isolated from *Vanda roxburghii*. *Adv Pharmacol Pharm Sci.* 2021;2021:5569054. doi: [10.1155/2021/5569054](https://doi.org/10.1155/2021/5569054)
49. Tiperchiu B, Părvu A, Tamaian R, Nastasă C, Ionuț I, Oniga O. New anti-inflammatory thiazolyl-carbonyl-thiosemicarbazides and thiazolyl-azoles with antioxidant properties as potential iNOS inhibitors. *Arch Pharm Res.* 2013;36(6):702-14. doi: [10.1007/s12272-013-0083-9](https://doi.org/10.1007/s12272-013-0083-9)
50. Cancela S, Minini L, Mourglia-Ettlin G, Merlino A, Lavaggi ML, Hernandez P. Novel thiazole-nitrono hybrids as innovative neuroprotective agents with antioxidant and antiapoptotic properties. *Results Chem.* 2025;16:102414. doi: [10.1016/j.rechem.2025.102414](https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.102414)
51. Khan S, Iqbal T, Hussain R, Fiaz Z, Abdellatif MH, Kashtoh H. Novel thiazole-thiadiazole as a potential anti-Alzheimer agent: synthesis and molecular interactions via an *in silico* study. *Future Med Chem.* 2025;17(12):1349-61. doi: [10.1080/17568919.2025.2525066](https://doi.org/10.1080/17568919.2025.2525066)
52. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci Rep.* 2020;10(1):2611. doi: [10.1038/s41598-020-59451-z](https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z)
53. Parcheta M, Świsłocka R, Orzechowska S, Akimowich M, Choińska R, Lewandowski W. Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials.* 2021;14(8):1984. doi: [10.3390/ma14081984](https://doi.org/10.3390/ma14081984)
54. Platzer M, Kiese S, Tbussek T, Herfellner T, Schneider F, Schweigert-Weisz U, et al. Radical scavenging mechanisms of phenolic compounds: A quantitative structure-property relationship (QSPR) study. *Front Nutr.* 2022;9:882458. doi: [10.3389/fnut.2022.882458](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.882458)
55. Vloockó RB, Mastuyugin M, Török B, Török M. Correlation of physico-chemical properties with antioxidant activity in phenol and thiophenol analogues. *Sci Rep.* 2025;15(1):73. doi: [10.1038/s41598-024-83982-4](https://doi.org/10.1038/s41598-024-83982-4)
56. Jaaney PJ, Pavitra PB, Pavan TS, Zakiya FC, Sindhu TJ, Treesa PV. Synthesis and molecular docking studies of thiazolidinone derivatives with peroxiredoxins as antioxidant agents. *Res J Pharm Technol.* 2024;17(12):5855-2. doi: [10.52711/0974-360X.2024.00889](https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00889)
57. Abe C, Miyazawa T, Miyazawa T. Current use of Fenton reaction in drugs and food. *Molecules.* 2022;27(17):5451. doi: [10.3390/molecules27175451](https://doi.org/10.3390/molecules27175451)
58. Gulcin I. Antioxidants: A comprehensive review. *Arch Toxicol.* 2025;99:1893-997. doi: [10.1007/s00204-025-03997-2](https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2)
59. Noreen S, Sumra SH. Aminothiazole-linked metal chelates: Synthesis, density functional theory, and antimicrobial studies with antioxidant correlations. *ACS Omega.* 2021;6(48):33085-99. doi: [10.1021/acsomega.1c05290](https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05290)
60. Kassab RM, Al-Hussain SA, Zaki M, Mohamed GG, Muhammad ZA. Novel hydroxy-tagged bis-dihydrothiazole derivatives: Synthesis, antimicrobial capacity and formation of some metal chelates with iron, cobalt and zinc ions. *Arab J Chem.* 2024;17(9):105933. doi: [10.1016/j.arabjc.2024.105933](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2024.105933)
61. Zhao Z. Iron and oxidizing species in oxidative stress and Alzheimer's disease. *Aging Med.* 2019;2(2):82-7. doi: [10.1002/agm2.12074](https://doi.org/10.1002/agm2.12074)
62. Kaur G, Singh JV, Gupta MK, Bhagat K, Gulati HK, Singh A, et al. Thiazole-5-carboxylic acid derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors: design, synthesis, *in vitro* evaluation, and molecular modeling studies. *Med Chem Res.* 2020;29:83-93. doi: [10.1007/s00044-019-02461-y](https://doi.org/10.1007/s00044-019-02461-y)
63. Wang MX, Qin HW, Liu C, Lv SM, Chen JS, Wang CG, et al. Synthesis and biological evaluation of thiazolidine-2-thione derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors. *PLoS One.* 2022;17(5):e0268531. doi: [10.1371/journal.pone.0268531](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268531)
64. Gao HM, Zhou H, Hong JS. NADPH oxidases: novel therapeutic targets for neurodegenerative diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2012;33(6):295-303. doi: [10.1016/j.tips.2012.03.008](https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.03.008)

65. Korkmaz IN. Investigation of the effects of thiazole compounds on thioredoxin reductase 1 (TrxR1), glutathione S-transferase (GST), and glutathione reductase (GR) targeted human brain glioblastoma cancer (U-87 MG). *Biotechnol Appl Biochem*. 2024;71(4):948-59. doi: [10.1002/bab.2589](https://doi.org/10.1002/bab.2589)
66. Islam A, Rai RK, Pati RS, Muralidharan Y, Roy G. Thiazole- and Benzothiazole-Based Organoselenium Compounds as Dual-Action Agents: Tyrosinase Inhibitors and Functional Mimics of Glutathione Peroxidase. *Inorg Chem*. 2025;64(36):18206-26. doi: [10.1021/acs.inorgchem.5c02356](https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5c02356)
67. Lemilemu F, Bitew M, Demissie TB, Eswaramoorthy R, Endale M. Synthesis, antibacterial and antioxidant activities of thiazole-based Schiff base derivatives: a combined experimental and computational study. *BMC Chem*. 2021;15:67. doi: [10.1186/s13065-021-00791-w](https://doi.org/10.1186/s13065-021-00791-w)
68. Minickaitė R, Grybaitė B, Vaickelionienė R, Kavaliauskas P, Petraitis V, Petraitiene R, et al. Synthesis of Novel Amino-thiazole Derivatives as Promising Antiviral, Antioxidant and Antibacterial Candidates. *Int J Mol Sci*. 2022;23(14):7688. doi: [10.3390/ijms23147688](https://doi.org/10.3390/ijms23147688)
69. Sarkar A, Middya TR, Jana AD. A QSAR study of radical scavenging antioxidant activity of a series of flavonoids using DFT based quantum chemical descriptors—the importance of group frontier electron density. *J Mol Model*. 2012;18(6):2621-31. doi: [10.1007/s00894-011-1274-2](https://doi.org/10.1007/s00894-011-1274-2)
70. Ali HM, Abo-Shady A, Eldeen H, Soror HA, Ghousha WG, Abdel-Barry OA, et al. Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chem Cen J*. 2013;7:53. doi: [10.1186/1752-153X-7-53](https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-53)
71. De S, Adhikari S, Tilak-Jain J, Menon VP, Devasagayam TP. Antioxidant activity of an aminothiazole compound: possible mechanisms. *Chem Biol Interact*. 2008;173(3):215-23. doi: [10.1016/j.cbi.2008.03.011](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.03.011)
72. Hoa NT, Trung NQ, Thong NM, Mechler A, Vo QV. The radical scavenging activity of monosubstituted iminostilbenes: Theoretical insights. *Chem Phys Lett*. 2021;784:139105. doi: [10.1016/j.cplett.2021.139105](https://doi.org/10.1016/j.cplett.2021.139105)
73. Badawy SA, Rewish NM, Fadda AA, Elmorsy MR. Novel Triazole-carbohydrazide hydrazones with dual antioxidant and antibacterial potential. *Sci Rep*. 2025;15:41456. doi: [10.1038/s41598-025-26016-x](https://doi.org/10.1038/s41598-025-26016-x)
74. Ulrich K, Jakob U. The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radic Biol Med*. 2019;140:14-27. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035)
75. Benhar M. Oxidants, antioxidants and thiol redox switches in the control of regulated cell death pathways. *Antioxidants*. 2020;9(4):30. doi: [10.3390/antiox9040309](https://doi.org/10.3390/antiox9040309)
76. Charlton NC, Mastyugin, Török B, Török M. Structural features of small molecule antioxidants and strategic modifications to improve potential bioactivity. *Molecules*. 2023;28(3):1057. doi: [10.3390/molecules28031057](https://doi.org/10.3390/molecules28031057)
77. Chen Z, Świsłocka R, Chojńska R, Marszałek K, Dąbrowska A, Lewandowski W, et al. Exploring the Correlation Between the Molecular Structure and Biological Activities of Metal-Phenolic Compound Complexes: Research and Description of the Role of Metal Ions in Improving the Antioxidant Activities of Phenolic Compounds. *Int J Mol Sci*. 2024;25(21):11775. doi: [10.3390/ijms252111775](https://doi.org/10.3390/ijms252111775)
78. Mucha P, Skoczyńska A, Malecka M, Hikiż P, Budzisz E. Overview of the Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Selected Plant Compounds and Their Metal Ions Complexes. *Molecules*. 2021;26(16):4886. doi: [10.3390/molecules26164886](https://doi.org/10.3390/molecules26164886)
79. Waidande SS, Kshirsagar M, Thorat VM, Tiwari DD. Role of Antioxidant Supplementation in Enhancing Chelation Therapy for Lead-Induced Oxidative Stress in Rats. *Cureus*. 2025;17(2):e79699. doi: [10.7759/cureus.79699](https://doi.org/10.7759/cureus.79699)
80. Gao X, Xiao Y, Li W, Xu L, Yuan J. Synergistic effects of antioxidant blends: A comparative study on oxidative stability of lipids in feed matrices. *Antioxidants*. 2025;14(8):981. doi: [10.3390/antiox14080981](https://doi.org/10.3390/antiox14080981)
81. Guzmán-López E, Reina M, Hernández-Ayala LF, Galano A. Rational design of multifunctional ferulic acid derivatives aimed for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Antioxidants*. 2023;12(6):1256. doi: [10.3390/antiox12061256](https://doi.org/10.3390/antiox12061256)
82. Zhao Y, Xia C, Jiang C, Kan C, Gao Y, Zou Y, He L. Comparison of the content of active ingredients and antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities in different parts of *Fructus Choerospondiatis*. *Sci Rep*. 2024;14:28670. doi: [10.1038/s41598-024-80334-0](https://doi.org/10.1038/s41598-024-80334-0)
83. Ajala A, Uzairu A, Shallangwa GA, Abechi S. QSAR, simulation techniques, and ADMET/pharmacokinetics assessment of a set of compounds that target MAO-B as anti-Alzheimer agent. *Future J Pharm Sci*. 2023;9:4. doi: [10.1186/s43094-022-00452-2](https://doi.org/10.1186/s43094-022-00452-2)
84. Ollitrault G, Marzo M, Roncaglioni A, Benfenati E, Taboureau O, Mombelli E. QSAR Models for Predicting Oral Bioavailability and Volume of Distribution and Their Application in Mapping the TK Space of Endocrine Disruptors. *J Xenobiot*. 2025;15(5):166. doi: [10.3390/jox15050166](https://doi.org/10.3390/jox15050166)
85. Cemali SH, Poyraz S, Belveren S, Taş S, Tamer MA, Döndaş NY, et al. Recent Insights in Multi-Target Drugs in Pharmacology and Medicinal Chemistry. *ChemMedChem*. 2025;20(18):e202500447. doi: [10.1002/cmdc.202500447](https://doi.org/10.1002/cmdc.202500447)
86. Rocca R. Multi-target profiling of antioxidant compounds, including repurposing and combination strategies. *Antioxidants*. 2025;14(2):220. doi: [10.3390/antiox14020220](https://doi.org/10.3390/antiox14020220)
87. Liu S, Liu J, Wang Y, Deng F, Deng Z. Oxidative Stress: Signaling Pathways, Biological Functions, and Disease. *MedComm* (2020). 2025;6(7):e70268. doi: [10.1002/mco2.70268](https://doi.org/10.1002/mco2.70268)
88. Papagiouvannis G, Theodosios-Nobelos P, Kourounakis PN, Rekkas EA. Multi-Target Directed Compounds with Antioxidant and/or Anti-Inflammatory Properties as Potent Agents for Alzheimer's Disease. *Med Chem*. 2021;17(10):1086-103. doi: [10.2174/1573406416666201013161303](https://doi.org/10.2174/1573406416666201013161303)
89. Liu J, Li K, Yi Z, Saqirile, Wang C, Yang R. Oxidative-Inflammatory Crosstalk and Multi-Target Natural Agents: Decoding Diabetic Vascular Complications. *Curr Issues Mol Biol*. 2025;47(8):614. doi: [10.3390/cimb47080614](https://doi.org/10.3390/cimb47080614)
90. Chaudhary J, Jain A, Dhingra A, Chopra B, Sharma V, Gupta J, et al. 1,3-Thiazole derivatives: A scaffold with considerable potential in the treatment of neurodegenerative diseases. *Curr Top Med Chem*. 2023;23(23):2185-96. doi: [10.2174/15680266236626230719124850](https://doi.org/10.2174/15680266236626230719124850)
91. Ruankham W, Pingaew R, Prachayasittikul V, Worachartcheewan A, Sathuphong S, Apiraksattayakul S, et al. Neuroprotective thiazole sulfonamides against 6-OHDA-induced Parkinsonian model: *in vitro* biological and *in silico* pharmacokinetic assessments. *RSC Adv*. 2025;15:4281-95. doi: [10.1039/D4RA04941A](https://doi.org/10.1039/D4RA04941A)
92. Jornada DH, dos Santos Fernandes GF, Chiba DE, de Melo TR, dos Santos JL, Chung MC. The Prodrug Approach: A Successful Tool for Improving Drug Solubility. *Molecules*. 2015;21(1):42. doi: [10.3390/molecules21010042](https://doi.org/10.3390/molecules21010042)
93. de Souza MM, Gini A, Moura JA, Scarim CB, Chin CM, dos Santos JL. Prodrug approach as a strategy to enhance drug permeability. *Pharmaceuticals*. 2025;18(3):297. doi: [10.3390/ph18030297](https://doi.org/10.3390/ph18030297)
94. Subbaiah M, Rautio J, Meanwell NA. Prodrugs as empowering tools in drug discovery and development: recent strategic applications of drug delivery solutions to mitigate challenges associated with lead compounds and drug candidates. *Chem Soc Rev*. 2024;53:2099-210. doi: [10.1039/D2CS00957A](https://doi.org/10.1039/D2CS00957A)
95. Chaturvedi P, Sharma R, Khare S, Shrivastava D, Singh A, et al. Prodrug-based drug delivery systems: Strategic approaches and emerging challenges in targeted therapeutics. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2025; doi: [10.1007/s00210-025-04570-5](https://doi.org/10.1007/s00210-025-04570-5)
96. Chen L, Zhao D, Zhu K, Wang D, Li Y, Qu M, et al. Indole-thiazole hybrids with anticancer potential. *Future Med Chem*. 2026;18(6):713-28. doi: [10.1080/17568919.2026.2620365](https://doi.org/10.1080/17568919.2026.2620365)
97. Dwarakanath D, Nayak YN, Kulal A, Pandey S, Ranganath Pai KS, Gaonkar SL. Synthesis, characterization and *in silico* studies of novel multifunctional imidazole-thiazole hybrids with potent antimicrobial and anticancer properties. *Sci Rep*. 2025;15:9809. doi: [10.1038/s41598-025-93249-1](https://doi.org/10.1038/s41598-025-93249-1)
98. Mishra I, Sharma V, Krishna G, Narayan S, Sethi VA, Dhakad PK, et al. Thiazole-Based Antioxidants: Pioneering a Decade of Therapeutic Advances. *Curr Top Med Chem*. 2026 Jan 26. doi: [10.2174/0115680266398772251028104003](https://doi.org/10.2174/0115680266398772251028104003)
99. Sinha S, Manju SL, Doble M. Chalcone-thiazole hybrids: Rational design, synthesis, and lead identification against 5-lipoxygenase. *ACS Med Chem Lett*. 2019;10(10):1415-22. doi: [10.1021/acsmchemlett.9b00193](https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00193)
100. Kumari G, Dhillon S, Rani P, Chahal M, Aneja DK, Kingler M. Development in the synthesis of bioactive thiazole-based heterocyclic hybrids utilizing phenacyl bromide. *ACS Omega*. 2024;9(17):18709-46. doi: [10.1021/acsomega.3c10299](https://doi.org/10.1021/acsomega.3c10299)
101. Klimoszek D, Jeleń M, Dołowy M, Morak-Młodawska B. Study of the lipophilicity and ADMET parameters of new anticancer diquinothiazines with pharmacophore substituents. *Pharmaceuticals*. 2024;17(6):725. doi: [10.3390/ph17060725](https://doi.org/10.3390/ph17060725)
102. Wu K, Kwon SH, Zhou X, Fuller C, Wang X, Vadgama J, et al. Overcoming challenges in small-molecule drug bioavailability: A review of key factors and approaches. *Int J Mol Sci*. 2024;25(23):13121. doi: [10.3390/ijms252313121](https://doi.org/10.3390/ijms252313121)

103. Tropsha A, Isayev O, Varnek A, Schneider G, Cherkasov A. Integrating QSAR modelling and deep learning in drug discovery: the emergence of deep QSAR. *Nat Rev Drug Discov.* 2024;23:141-55. doi: [10.1038/s41573-023-00832-0](https://doi.org/10.1038/s41573-023-00832-0)
104. Koirala M, Yan L, Mohamed Z, DiPaola M. AI-integrated QSAR modeling for enhanced drug discovery: From classical approaches to deep learning and structural insight. *Int J Mol Sci.* 2025;26(19):9384. doi: [10.3390/ijms26199384](https://doi.org/10.3390/ijms26199384)
105. Alkalbani N, Shahin L, Benzeghiba H, Obaid RS, Osaili TM, Ismail LC, et al. Artificial intelligence in functional food innovation: Bioactive enhancement and formulation optimization: A quasi-systematic review. *Food Chem X.* 2026;34:103628. doi: [10.1016/j.fochx.2026.103628](https://doi.org/10.1016/j.fochx.2026.103628)
106. Wang Y, Yang J, Fang B, Wang K, Fu Y. An AI-driven multilayer strategy and curated dataset for mining antioxidant peptides from yak bone collagen hydrolysates. *Food Res Int.* 2026;231(1):118689. doi: [10.1016/j.foodres.2026.118689](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2026.118689)
107. Xie D, Tian Y, Cao L, Guo P, Cai Z, Zhou J. 3D-QSAR, design, molecular docking and dynamics simulation studies of novel 6-hydroxybenzothiazole-2-carboxamides as potentially potent and selective monoamine oxidase B inhibitors. *Front Pharmacol.* 2025;16:1545791. doi: [10.3389/fphar.2025.1545791](https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1545791)



## Похідні 1,2,4-тріазолу як перспективні агенти для ранозагоювальної терапії (огляд літератури)

І. В. Бушуєва <sup>A,E,F</sup>, О. А. Ділягін <sup>A,B,C,D</sup>

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

Актуальність дослідження похідних 1,2,4-тріазолу зумовлена зростанням резистентності мікроорганізмів та потребою у створенні нових ефективних і безпечних лікарських засобів. Похідні 1,2,4-тріазолу є перспективними сполуками у сучасній медичній хімії завдяки широкому спектру біологічної активності та здатності до мультицільової дії. Крім фармакології, ці сполуки мають значний потенціал у матеріалознавстві, каталізі, «зеленій хімії» та як засоби з ранозагоювальною активністю.

**Мета роботи** – здійснити систематичний огляд наукової літератури, що індексуються в міжнародних наукометричних базах даних, узагальнення й критичне оцінювання відомостей щодо ранозагоювальної активності, синтезу, фізико-хімічних властивостей, біологічної активності та безпеки похідних 1,2,4-тріазолу; визначити ключові структурно-активні взаємозв'язки та найбільш придатні фармацевтичні платформи для локальної терапії ранових процесів.

**Матеріали і методи.** Матеріали дослідження – наукові публікації, відібрані в результаті систематичного пошуку в базах даних PubMed / MEDLINE, Scopus, Web of Science, Embase, Cochrane Library та Google Scholar. Під час роботи використано пошуковий, аналітичний, описовий методи, а також методи порівняння та узагальнення отриманих даних.

**Результати.** У результаті вивчення доступної інформації та інформаційно-патентного пошуку встановлено, що сполуки, які містять 1,2,4-тріазольну групу, мають широкий спектр біологічної активності, зокрема виражені протизапальні властивості, що опосередковуються інгібуванням ЦОГ-1 / ЦОГ-2, LOX та модуляцією рівнів прозапальних цитокінів. Показано, що низка сполук виявляє високу активність *in vitro* та *in vivo*, в окремих випадках перевершуючи препарати-еталони. Доведено, що калій 5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолат має комплексну фармакологічну дію (антиоксидантну, протизапальну та репаративну), сприяє зниженню окисного стресу, стимулює проліферацію клітин і синтез колагену, тим самим прискорюючи загоєння ран. За даними доказової спеціалізованої літератури, встановлено його низьку токсичність, високу біосумісність і переваги над традиційними місцевими терапіями.

**Висновки.** Систематичний огляд наукових джерел, що індексуються у міжнародних наукометричних базах даних, підтвердив: похідні 1,2,4-тріазолу є багатофункціональними агентами для локальної терапії ран, оскільки поєднують антимікробну, антиоксидантну та протизапальну дії та можуть стимулювати клітинну проліферацію й ангіогенез; полімерні системи на їхній основі мають біосумісність і релевантні фізико-хімічні параметри для загоєння опікових ран. Визначено ключову роль заміщень у положеннях 3 і 5 тріазольного кільця у формуванні біоактивності; показано перспективність таргетування запального каскаду.

**Ключові слова:** похідні 1,2,4-тріазолу, біологічна активність, рани, ранозагоювальна дія, токсичність, показники активності, будова – дія.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.** 2026. Т. 19, № 2(51). С. 208-215

### 1,2,4-triazole derivatives as promising agents for wound healing therapy (literature review)

I. V. Bushuieva, O. A. Dilyahin

The relevance of studying 1,2,4-triazole derivatives lies in the growing resistance of microorganisms and the need to develop new, effective, and safe medicines. Derivatives of 1,2,4-triazole are promising compounds in modern medical chemistry due to their wide spectrum of biological activity and ability to act on multiple targets. In addition to pharmacology, these compounds have significant potential in materials science, catalysis, “green chemistry” and as agents with wound-healing activity.

**The aim of the work** is to conduct a systematic review of the literature based on data from international scientometric databases, to summarise and critically evaluate data on the wound-healing activity, synthesis, physicochemical properties, biological activity and safety of 1,2,4-triazole derivatives; to identify key structure-activity relationships and the most suitable pharmaceutical platforms for the local treatment of wound processes.

#### ARTICLE INFO

UDC 547.792:616-001.4-085]-021.151  
DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.356767](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.356767)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.** 2026;19(2):208-215

**Keywords:** 1,2,4-triazole derivatives, biological activity, wounds, wound healing effect, toxic action, activity indicators, structure – action.

Received: 06.03.2026 // Revised: 30.04.2026 // Accepted: 13.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**Materials and methods.** Scientific publications selected as a result of a systematic search in the databases PubMed / MEDLINE, Scopus, Web of Science, Embase, Cochrane Library and Google Scholar served as research materials. The work uses search, analytical, descriptive methods, as well as methods of comparison and generalization of the obtained data.

**Results.** Based on the study of available information and conducting an information-patent search, it was established that compounds containing the 1,2,4-triazole group exhibit a wide range of biological activity, in particular, pronounced anti-inflammatory properties mediated by inhibition of COX-1 / COX-2, LOX and modulation of pro-inflammatory cytokine levels. A number of compounds have been shown to exhibit high activity both *in vitro* and *in vivo*, in some cases surpassing reference drugs. It has been proven that potassium 5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiolate has a complex pharmacological effect (antioxidant, anti-inflammatory and reparative), helps reduce oxidative stress, stimulates cell proliferation and collagen synthesis, thereby accelerating wound healing. Based on a review of authoritative publications, its low toxicity, demonstration of high biocompatibility, and superiority over traditional topical therapies have been established.

**Conclusions.** A systematic review of the literature based on data from international scientometric databases has confirmed that 1,2,4-triazole derivatives are multifunctional agents for local wound therapy: they combine antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory effects and are capable of stimulating cell proliferation and angiogenesis; polymer systems based on them demonstrate biocompatibility and relevant physicochemical parameters for the healing of burn wounds. The key role of substitutions at 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> positions of the triazole ring in determining bioactivity has been established; the promise of targeting the inflammatory cascade has been demonstrated.

**Keywords:** 1,2,4-triazole derivatives, biological activity, wounds, wound healing effect, toxic action, activity indicators, structure – action.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):208-215**

Похідні 1,2,4-тріазолу становлять значний інтерес для сучасної медичної хімії та фармакології завдяки широкому спектру біологічної активності, який зумовлений їхньою структурною різноманітністю та високою хімічною реакційною здатністю [1]. Ці гетероциклічні сполуки відомі як «привілейовані структури», що можуть взаємодіяти з різноманітними біомішенями; це відкриває широкі перспективи для створення нових лікарських засобів [2].

Особливу увагу науковців привертає багатофункціональність тріазольного ядра, яке може бути модифіковане для оптимізації фармакологічних властивостей. Багатогранність вивчення похідних 1,2,4-тріазолу полягає в комплексному аналізі їхніх фізико-хімічних, фармакодинамічних і фармакокінетичних характеристик, що включає дослідження антибактеріальної, протизапальної, протипухлинної, антиоксидантної, протигрибкової, протівірусної та ранозагоювальної активності [3,4]. Такий підхід зумовлений не лише потенціалом цих сполук щодо прояву мононаправленої дії, але й можливістю реалізації мультицільової фармакології, що є актуальним напрямом у сучасному пошуку лікарських субстанцій. Заміщені 1,2,4-тріазоли вирізняються надзвичайно широким спектром біологічної активності, що робить їх одними з найперспективніших гетероциклічних систем у сучасній фармакології [5].

Багато похідних цього ряду мають виражені протимікробні, протигрибкові та протівірусні властивості, перевершуючи за ефективністю відомі лікарські засоби. Окремі представники характеризуються значною протизапальною, антиоксидантною та імуномодулювальною діями, що відкриває можливості для створення нових засобів патогенетичної терапії [6].

Особливий інтерес викликають сполуки з протипухлинним потенціалом, що можуть інгібувати проліферацію злякисних клітин. Завдяки поєднанню хімічної варіативності та біологічної універсальності, заміщені 1,2,4-тріазоли визначають як платформу для розроблення інноваційних препаратів нового покоління [7].

Вивчення заміщених 1,2,4-тріазолів є важливим не лише через їхні біологічні властивості, але й завдяки широким можливостям застосування у різних галузях науки і техніки. Ці сполуки мають цікаві електронні й оптичні характеристики, що робить їх перспективними матеріалами для створення органічних напівпровідників, світловипромінювальних пристроїв і сенсорів. Завдяки наявності кількох атомів Нітрогену в тріазольному кільці, вони легко утворюють стабільні комплекси з іонами металів, які широко використовують у координаційній хімії та каталізі, зокрема в реакціях окиснення та гідрогенізації. Крім того, заміщені тріазоли характеризуються високою хімічною стабільністю, і тому їх застосовують як інгібітори корозії та стабілізатори у промислових процесах. Значний науковий інтерес викликає їхня роль у розвитку «зеленої хімії», адже багато похідних 1,2,4-тріазолу можуть замінювати токсичні реагенти та діяти як безпечні каталізатори, сприяючи екологічно чистим технологіям.

Особливої актуальності набуває дослідження похідних 1,2,4-тріазолу як засобів із ранозагоювальною активністю, що передбачає вивчення не лише прямого впливу на репаративні процеси, але й супутніх ефектів, зокрема протимікробної, протизапальної та антиоксидантної дії [8,9]. Такий системний підхід дає змогу всебічно оцінити терапевтичний потенціал цих сполук і визначити перспективні напрями їх наступної модифікації та застосування в клінічній практиці.

## Мета роботи

Здійснити систематичний огляд наукової літератури, що індексуються в міжнародних наукометричних базах даних, узагальнення й критичне оцінювання відомостей щодо ранозагоювальної активності, синтезу, фізико-хімічних властивостей, біологічної активності та безпеки похідних 1,2,4-тріазолу; визначити ключові структурно-активні взаємозв'язки та найбільш придатні фармацевтичні платформи для локальної терапії ранових процесів.

## Матеріали і методи дослідження

Здійснили систематичний скопус-орієнтований огляд літератури щодо похідних 1,2,4-тріазолу, їхньої ранозагоювальної активності та можливостей фармацевтичного застосування. Пошук літератури здійснили у PubMed / MEDLINE, Scopus, Web of Science, Embase, Cochrane Library та Google Scholar; залучали джерела англійською та українською мовами або з англійськими анотаціями.

Похідні 1,2,4-тріазолу останніми роками активно вивчають через широкий спектр біологічної активності, зокрема ранозагоювальні властивості. Їхня структура дає змогу здійснювати модифікацію, що забезпечує створення нових ефективних сполук із бажаною фармакологічною дією. Ранозагоювальна активність похідних 1,2,4-тріазолу пов'язана з кількома факторами: антимікробна активність – зниження ризику інфікування рани, антиоксидантна дія – зменшення окисного стресу у зоні ушкодження, протизапальна дія – пригнічення вироблення прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), стимуляція проліферації клітин – активація фібробластів і кератиноцитів, поліпшення мікроциркуляції – сприяє регенерації тканин.

## Результати

Різні замісники в положеннях 3 і 5 тріазольного кільця впливають на біоактивність. Гідразонні похідні 1,2,4-тріазолу мають високу протизапальну та регенеративну активність. Сполуки з ароматичними або гетероциклічними замісниками покращують проникнення в тканини та подовжують тривалість дії. В окремих дослідженнях на тваринах показано, що нанесення мазей або гелів з похідними 1,2,4-тріазолу прискорює епітелізацію та формування грануляційної тканини. Похідні 5-меркапто-1,2,4-тріазолу мають виражену антисептичну та протизапальну дію, сприяють швидшому загоєнню ран.

Паралельно з дослідженням ранозагоювальної активності похідних 1,2,4-тріазолу доцільним є комплексне вивчення інших видів біологічної активності, що можуть опосередковано або безпосередньо впливати на процес репарації тканин. Зокрема, особливий науковий інтерес викликає такий напрям, як протимікробна активність, оскільки мікробне контамінування ранової поверхні є одним із ключових чинників, що ускладнюють загоєння ран. Виявлення антимікробної дії дає змогу визначити ці сполуки як потенційні засоби для профілактики та лікування інфекцій у рановому процесі. Важливою є також протизапальна активність, оскільки контроль запальної фази репаративного процесу має суттєве значення для його фізіологічного перебігу. Відомо, що надмірна або пролонгована запальна реакція може інгібувати проліферативну та ремоделювальну фази загоєння. Антиоксидантна активність є важливою, зважаючи на роль оксидативного стресу у пошкодженні клітин і порушенні регенераторних процесів. Сполуки з вираженим антиоксидантним потенціалом можуть сприяти зменшенню

ушкодження тканин в умовах оксидативного дисбалансу. Цитопротекторна активність забезпечує збереження функціональної активності клітин, залучених до процесів епітелізації, ангиогенезу та формування грануляційної тканини. Аналгетичний потенціал має значення для покращення якості життя пацієнтів у період відновлення, а також може впливати на загальний перебіг репаративних процесів через зниження рівня стресу та нейрогенних запальних реакцій.

Отже, у межах досліджень ранозагоювальних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу доцільним є одночасне вивчення комплексу фармакологічних ефектів, що мають патогенетичне значення у контексті загоєння ран. Це дає змогу здійснити більш повну фармакологічну характеристику сполук та оцінити їхній потенціал як мультифункціональних терапевтичних агентів.

У контексті дослідження ранозагоювальних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу науковці зосереджують увагу насамперед на вивченні механізмів впливу цих сполук на основні етапи репаративного процесу, враховуючи їхню потенційну поліфункціональну фармакологічну активність. Акцентують передусім на модулюванні запальної відповіді – тріазольні похідні часто виявляють протизапальні властивості, що відіграють вкрай важливу роль у нормалізації перебігу першої фази загоєння. Зниження рівня прозапальних медіаторів (наприклад, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) сприяє переходу до проліферативної фази. Далі відбувається стимуляція проліферації клітин та ангиогенезу.

Досліджують здатність тріазолів активувати клітинну проліферацію (фібробластів, кератиноцитів) та утворення нових кровоносних судин, що критично важливо для відновлення живлення тканин у зоні ушкодження.

Наступний аспект – вивчення антиоксидантної дії. Активно вивчають здатність тріазольних похідних нейтралізувати вільні радикали та знижувати рівень оксидативного стресу, що є одним із провідних патогенетичних чинників уповільненого загоєння.

Вплив етилового ефіру 5'-(4-етоксibenзоіл)-5',7'-дигідроспіро[циклопентан-1,6'-[1,2,3]-тріазоло[5,1-b][1,3,4]-гіадіазин]-3'-карбонової кислоти на загоєння лінійних ран шкіри вивчали на щурах. Встановлено, що ця сполука має стимулювальну дію на проліферацію фібробластів шкіри, збільшує регенеративний потенціал пошкодженої тканини. Оцінювання перебігу ранового процесу дало підстави зробити висновок, що використання досліджуваної речовини однозначно прискорювало перебіг репараційної регенерації покриву порівняно з контролем; запальні процеси мали помірний перебіг, без залучення глибоких шарів шкіри. Метаболічні порушення оцінювали у щурів з опіковими ранами після застосування 2-морфоліно-5-феніл-6H-1,3,4-гіадіазину. Показано, що введення цієї сполуки зменшувало вираженість порушень метаболізму, асоційованих із травматичними ушкодженнями шкіри [8]. Наприкінці експерименту зафіксовано значне підвищення концентрації глюкози, глікованого гемоглобіну, малонового діальдегіду та активності каталази, а активність пероксидази значно

знижена в групі тварин, які отримували досліджувану сполуку. Ці результати підтверджують, що корекція біохімічних показників у щурів з опіковими ушкодженнями відбувалася протягом щонайменше 3 тижнів [9].

Розробка специфічної терапії для прискорення відновлення опікових ран є важливим напрямом з огляду на потребу зниження інтенсивності болю та пов'язаного з ними соціально-економічного навантаження. Активація передачі сигналів рецептора CXCR4 за допомогою агоністів або позитивних алостеричних модуляторів (PAM) забезпечує потенціал для терапевтичних відкриттів і розробки малих молекул. Автори [10] повідомили про високопродуктивний скринінг та ідентифікацію часткового агоніста CXCR4 UCUF-728, характеристику активності *in vitro* та скороченого часу закриття ран у мишей з опіками при 10 мкМ, що підтверджує концепцію. Повідомили також про відкриття другого хімічного скелета, який показав підвищену агоністичну дію і представлений похідним тіадіазину UCUF-965. UCUF-965 є потужним частковим агоністом рекрутингу  $\beta$ -арестину в клітинній лінії, що надекспресує рецептор CXCR4. Крім того, UCUF-965 потенціює максимальну відповідь CXCL12 у сигнальному шляху cAMP, активує стимульовану CXCL12 міграцію в клітинах лімфоцитів і модулює рівні специфічної мікроРНК, яка бере участь у складному процесі загоєння рани, зокрема у фібробластах миші [10].

Проблема порушення загоєння ран є дуже складною у клінічній практиці. Такі фактори, як хронічні захворювання та старіння можуть негативно вплинути на процес загоєння, призводячи до його сповільнення. Крім того, зростання кількості бактерій, стійких до антибіотиків, створює загрозу та підвищує ризик ранових інфекцій. Як наслідок, для вирішення цих проблем і покращення результатів загоєння ран активно використовують новітні ранові пов'язки, тканинну інженерію та включення біоактивних молекул.

Нановолокна на основі біополімерів стали перспективним підходом у галузі загоєння ран. Ці нановолокна, що складаються з біосумісних і біорозкладних матеріалів, мають унікальні властивості, що імітують позаклітинний матрикс; це робить їх придатними для сприяння ефективній регенерації тканин. Включаючи різні функціональні групи та біоактивні молекули в біополімерну матрицю, нановолокна можна адаптувати для виявлення специфічних властивостей (антибактеріальних, протизапальних, здатності адгезії до клітин). Крім того, контрольоване вивільнення терапевтичних речовин із функціональних нановолокон забезпечує локалізоване лікування, сприяючи ефективному загоєнню та мінімізуючи можливі побічні ефекти. Загалом функціоналізовані електроформовані нановолокна на основі біополімерів мають великі перспективи як передові ранові пов'язки, оскільки є універсальною платформою для прискорення загоєння ран і покращення результатів лікування пацієнтів [11].

Сполуки, що містять у структурі 1,2,4-тріазольний фрагмент, характеризуються широким спектром біологічної активності. Багато з цих сполук мають протизапальну

активність *in vitro*, що реалізується за допомогою різних механізмів, як-от інгібування ЦОГ-1/ЦОГ-2 і LOX, модулювання рівнів прозапальних цитокінів або впливу на інші специфічні ферменти. Окремі сполуки показали також активність *in vivo*. У багатьох публікаціях показано: активність нових сполук на основі 1,2,4-тріазолу перевищує дію препаратів порівняння, що свідчить про їхній потенціал як нових терапевтичних засобів [12].

Розроблено новий метод синтезу 1,2,4-тріазол-3-карбоксилатів із нітрилімінів шляхом двостадійних реакцій амінування та гетероциклізації. На основі дослідження SAR протизапальної активності встановлено: більшість із цих сполук показали потенційну протизапальну активність щодо інгібування NO в індукованих LPS клітинах RAW 264.7 ( $IC_{50} < 7,0$  мкМ) порівняно з целекоксибом та індометацином. Оригінальні молекули розроблено та синтезовано як аналоги N-нортебаїну, пов'язані з тріазолом [13]. Антибактеріальні властивості нових похідних тебаїну вивчали на *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) і *Escherichia coli* (*E. coli*). Виходячи з результатів, сполуки мали найкращу активність проти *S. aureus* (мінімальна інгібувальна концентрація (MIC)  $\sim 25$  мкМ) порівняно з вихідною сполукою (MIC = 321 мкМ). Найбільш активні антибактеріальні похідні і тебаїн визначено як потужні антибактеріальні засоби для загоєння ран. Тому вивчали цитотоксичність і проліферацію клітин фібробластів, а також антигемолітичну активність цих сполук. Аналіз цитотоксичності з використанням 3-[4,5-диметилтіазол-2-іл]-2,5-дифенілтетразолію броміду на клітинних лініях дермальних фібробластів людини (HDF) показав, що продукти не спричиняли пригнічення росту клітинних ліній через 24 години [13].

Вважають, що лігнін – один із найпоширеніших відновлюваних видів сировини. Гідрофільний ланцюг поліоксазоліну прищеплено шляхом полімеризації з розкриттям кільця; одержаний матеріал містить однорідні сферичні наночастинки розміром 10–15 нм. Кополімер ковалентно модифіковано тріазольним фрагментом для посилення антимікробної та антибіоплівкової активності [14]. Гідрогель може знижувати рівень експресії IL-1 $\beta$  у клітинах макрофагів, індукованих ліпополісахаридом, і зумовлювати істотне зменшення продукції iNOS. Він підтримував клітинну протизапальну активність, що підтверджено люциферазним аналізом і дослідженням NF- $\kappa$ B. Цей новий лігніновмісний гідрогель, випробуваний *in vivo*, запобігав інфікуванню опікової рани, сприяв її загоєнню та використаний у складі перев'язувального матеріалу з протизапальною дією.

Узагальнено дані щодо синтезу, фізико-хімічних властивостей і біологічної активності полі(1-вініл-1,2,4-тріазолу) та його нанокompatивів із наночастинками срібла [15]. Наведено результати досліджень антибактеріальної та протипухлинної активності полімерів і нанокompatивів, їхніх імуномодулювальних властивостей, токсичності та взаємодії з клітинами організму, а також перспектив їх використання під час розроблення медичних матеріалів. У сучасній медицині посилюється попит на ефективні

біологічно активні матеріали, і тому активно працюють над створенням нових функціональних полімерних металовмісних нанокомпозитів, перспективних для розроблення антибактеріальних, імуномодулювальних препаратів і систем цільової (таргетованої) доставки контрастних агентів, лікарських засобів, модифікаторів і біосенсорів. Такі матеріали мають поєднувати важливі властивості: фармакологічну активність, гідрофільність, нетоксичність, біосумісність і стійкість до агресивних середовищ, а також здатність зв'язуватися з різними сполуками, включно з лікарськими.

За даними фахової літератури, гідрогелі та плівки є перспективними матеріалами для біомедичних застосувань, особливо під час лікування шкірних ран, завдяки унікальним структурним характеристикам, високій керованості фізико-хімічних властивостей і відмінній біосумісності. Інтеграція «розумних» (стимул-чутливих) функцій у гідрогелі забезпечує динамічні відповіді на різні зовнішні та внутрішні стимули. Тому розглянуто проєктування різних стимул-чутливих гідрогелів (плівок) для різних мікросередовищ у напрямі терапії шкірних ран [16]. Спочатку окреслено особливі мікросередовища трьох типових важкозагоєваних опікових ран і ключові механізми, що впливають на ефективність загоєння. Далі висвітлено стратегії створення гідрогелів і плівок, чутливих до внутрішніх (рН, активних форм кисню, ферментів і глюкози) та до зовнішніх (температура, світло, електричне й магнітні поля) стимулів, – з позицій мікросередовища рани та умов *in vitro*; показано структурно-функціональні взаємозв'язки між дизайном матеріалу, «інтелектуальною» відповіддю й процесом загоєння [16].

Блок-активатор 5-ліпоксигенази (FLAP) є регулятором клітинного біосинтезу лейкотрієнів, що керує передачею арахідонової кислоти до 5-ліпоксигенази для ефективного метаболізму. Описано синтез і FLAP-антагоністичний потенціал легкодоступних для синтезу похідних 1,2,4-тріазолу, що створені на основі раніше виявленої «хіт»-сполуки віртуального скринінгу. Встановлено, що прості структурні варіації у 4,5-діарильних фрагментах і 3-гіоефірному бічному ланцюзі каркаса 1,2,4-тріазолу істотно впливають на інгібувальний потенціал, підтверджуючи ключові хімічні ознаки, необхідні для антагонізму FLAP. Комплексний метабололіпідомний аналіз в активованих клітинах імунітету людини, що експресують FLAP, та в цільній крові людини дав змогу встановити, що найпотужніший аналог вибірково пригнічує утворення лейкотрієну В<sub>4</sub>, індуковане бактеріальними екзотоксинами [17]. Загалом каркас 1,2,4-тріазолу є новою хімічною платформою для розроблення потужніших антагоністів FLAP, що потребує продовження вивчення, зважаючи на їхній потенціал як нового класу протизапальних засобів.

Уповільнене загоєння ран і порушення регенеративного процесу шкіри при опіках залишається складною проблемою, а його патофізіологічні механізми – предметом досліджень. Тривала кровотеча, порушена регуляція запалення, пригнічена проліферація клітин, схильність

до інфекцій і порушене ремоделювання тканин – основні ознаки загоєння опікових ран. Традиційні перев'язувальні матеріали, зокрема марлеві пов'язки, плівки та бинти, мають обмежені функції: вони переважно є фізичним бар'єром та абсорбентом ексудату, що не відповідає умовам процесу загоєння опікових ран.

Останнім часом особливий науковий інтерес привертає застосування стимул-чутливих («розумних») гідрогелів із вмістом похідних 1,2,4-тріазолу для лікування опікових ран [18]. Їхня головна особливість – здатність змінювати механічні властивості, ступінь набухання, гідрофільність, проникність для біологічно активних молекул тощо у відповідь на різні стимули: температуру, водневий показник (рН), протеази та інші біологічні фактори. «Розумні» гідрогелі можуть підвищувати терапевтичну ефективність і зменшувати загальну токсичність, з огляду на специфіку опікових ран.

Калій 5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолат показав значний терапевтичний потенціал у процесах репарації пошкоджених тканин, а отже є перспективним інноваційним засобом у комплексному лікуванні ран. Основні фармакологічні переваги цієї сполуки полягають у поєднанні антиоксидантної, протизапальної та регенеративної активності. Тіольні групи (-SH) можуть ефективно зв'язувати та нейтралізувати активні форми кисню, запобігаючи у такий спосіб перекисному окисненню ліпідів клітинних мембран. Завдяки цьому зменшується окисний стрес у зоні ушкодження, що є критично важливим фактором для нормального перебігу фаз загоєння. Підтверджено, що тіольні сполуки активують проліферативну активність фібробластів і кератиноцитів, сприяючи синтезу колагену та формуванню грануляційної тканини. Це суттєво прискорює процеси епітелізації та відновлення цілісності шкірного покриву [19].

Внаслідок здатності модулювати експресію прозапальних цитокінів (наприклад, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), калієва сіль тіолу зменшує інтенсивність запалення, сприяючи переходу ранового процесу у фазу проліферації. На відміну від традиційних ранозагоєвальних засобів (антисептиків, глюкокортикостероїдних мазей тощо), які можуть спричиняти подразнення, сенсibiliзацію або мати системні побічні ефекти, тіольна сіль калію характеризується хорошою біосумісністю та низькою токсичністю. Порівняно з такими традиційними засобами для місцевого застосування, як срібловмісні препарати, мазі на основі антибіотиків або гормональні препарати, калієва сіль тіолу чинить комплексну дію з мінімальним ризиком виникнення резистентності та небажаних реакцій. Застосування калієвої солі тіолу в клінічній практиці обґрунтовано сучасними даними молекулярної фармакології та патофізіології ранового процесу, що робить її перспективним компонентом інноваційних засобів для лікування гострих і хронічних ран.

Аналіз наведених даних (*табл. 1*) дав змогу визначити чітку залежність між хімічною структурою похідних 1,2,4-тріазолу та їхньою ранозагоєвальною активністю.

Таблиця 1. Ранозагоювальні властивості похідних 1,2,4-тріазолу

Структурна основа	Замісники	Основна дія	Ранозагоювальна активність	Особливості
1,2,4-тріазол	H	Слабка	Низька	Немає функціоналізації
3-тіо-1,2,4-тріазол	-SH	Антиоксидантна	Середня	Зменшення оксидативного стресу
3-аміно-1,2,4-тріазол	-NH <sub>2</sub>	Протизапальна	Середня	Стимуляція проліферації клітин
3,5-дизаміщені (арильні)	Ar, Ar	Антибактеріальна, протизапальна	Висока	Контроль інфекції
3-тіо-5-арил похідні	-SH, Ar	Антиоксидантна, антимікробна	Висока	Синергія ефектів
3 карбоксильною групою	-COOH	Стимуляція грануляції	Середня / висока	Ангіогенез
3 алкільними ланцюгами	-R	Мембранотропна	Варіабельна	Залежить від ліпофільності

Базова сполука – 1,2,4-тріазол без функціональних замісників – має слабку біологічну дію і низьку ефективність у загоєнні ран. Отже, сама тріазольна система потребує структурної модифікації для виявлення фармакологічного потенціалу. Введення функціональних груп суттєво підвищує активність. Тіольна група (-SH) у 3-тіо-похідних забезпечує антиоксидантний ефект, сприяючи зменшенню оксидативного стресу як важливого фактора ушкодження тканин. Це підвищує ранозагоювальну активність до середнього рівня. Аміногрупа (-NH<sub>2</sub>) додає протизапальні властивості та стимулює проліферацію клітин, що також позитивно впливає на процес регенерації.

Найвищу ефективність мають складніше заміщені похідні: 3,5-дизаміщені арильні сполуки поєднують антибактеріальну та протизапальну дію, що дає змогу одночасно контролювати інфекцію та зменшувати запалення як ключові фактори успішного загоєння; 3-тіо-5-арил-похідні мають синергічний ефект (антиоксидантний та антимікробний), що сприяє високому рівню активності.

Скафолд 1,2,4-тріазол є важливою гетероциклічною системою з широким спектром фармакологічної активності та значним потенціалом у медичній хімії. Його похідні ефективні під час лікування туберкульозу, запальних та інфекційних захворювань, особливо завдяки структурним модифікаціям (електроноакцепторні замісники, гетероциклічні фрагменти, основи Шиффа та Манніха). Водночас окремі похідні 1,2,4-тріазолу характеризуються ранозагоювальними властивостями: вони можуть знижувати оксидативний стрес, пригнічувати запалення, виявляти антимікробну активність і стимулювати регенерацію тканин (проліферацію клітин та ангіогенез). Найбільш ефективними є багатофункціональні сполуки з комбінованими механізмами дії, що сприяють прискореному загоєнню ран [20].

Показано, що синтезовані похідні 1,2,4-тріазол на основі пара-тимолу виявили виражену антимікробну, протигрибкову та антиоксидантну активність, а також здатність інгібувати ДНК-гіразу. Найбільш активні сполуки ефективно пригнічували ріст патогенних мікроорганізмів і перевищили окремі стандартні препарати. Щодо ранозагоєння поєднання антимікробної та антиоксидантної дії є ключовим: ці сполуки можуть контролювати інфекцію в

рані, зменшувати оксидативний стрес, створюючи сприятливі умови для регенерації тканин [21].

Показано, що біс-похідні 1,2,4-тріазолу характеризувалися вираженою антиоксидантною активністю і здатністю пригнічувати фактори вірулентності пневмококу [22]. Найбільш активні сполуки ефективно нейтралізують вільні радикали та мають сприятливі фармакокінетичні властивості. З позиції ранозагоєння, їхня антиоксидантна дія є ключовою, оскільки зменшує оксидативний стрес у зоні ушкодження, що сприяє швидшій регенерації тканин. Додаткове пригнічення вірулентності мікроорганізмів допомагає знижувати ризик інфекційних ускладнень у рані [22].

У роботі В. С. Kumar et al. [23] досліджено гібридні сполуки бензімідазолу з включенням 1,2,4-тріазол, 1,3,4-оксадіазолу та основ Шиффа. За результатами молекулярного докінгу встановлено, що ці сполуки мали виражену біологічну активність (зокрема протипухлинну) та високу спорідненість до біологічних мішеней. Крім того, автори обґрунтували потенційний позитивний вплив похідних 1,2,4-тріазолу на загоєння ран [23]. Зокрема, наявність тріазольного фрагмента та основ Шиффа сприяє прояву антиоксидантних і протизапальних властивостей, що є вкрай важливими для регенерації тканин. Підтверджено, що здатність таких гібридів взаємодіяти з біомолекулами може стимулювати клітинну проліферацію та репаративні процеси.

Синтезовані біс-гетероциклічні сполуки на основі 1,2,4-тріазол та ізоксазолідинів можна визначити як потенційні ранозагоювальні агенти [24]. Їхня структурна організація та наявність біологічно активних фрагментів створюють передумови для виявлення антиоксидантної, протизапальної та антимікробної дії. Завдяки цьому такі сполуки можуть зменшувати оксидативний стрес, контролювати інфекцію та сприяти регенерації тканин, що робить їх перспективними кандидатами для подальших досліджень у напрямі створення засобів для загоєння ран.

Ранозагоювальну активність похідних 1,2,4-тріазолу значною мірою визначають природа та комбінація замісників [25,26]. Як одні з найбільш перспективних визначено багатофункціональні похідні, що поєднують антиоксидантні, протизапальні й антимікробні властиво-

сті [27]. Синергія цих ефектів забезпечує високу ефективність у процесах регенерації тканин, що обґрунтовує доцільність подальшого використання таких сполук для розробки нових лікарських засобів для лікування ран [28].

Ранозагоювальна активність похідних 1,2,4-тріазолу істотно залежить від природи замісників у положеннях 3 і 5 гетероциклу [29]. Введення тіо-групи (-SH) у положення 3 сприяє посиленню антиоксидантних властивостей, що зменшує оксидативний стрес у зоні рани та прискорює регенерацію тканин. Аміногрупа (-NH<sub>2</sub>) у цій самій позиції стимулює проліферацію клітин і чинить протизапальну дію. Наявність арильних замісників у положенні 5 посилює антибактеріальну активність сполук, що є важливим фактором у процесі загоєння ран, оскільки зменшується ризик інфікування. Особливо ефективними є похідні, що поєднують тіогрупу й арильний фрагмент, демонструючи синергічний ефект.

Ліпофільність сполук також відіграє важливу роль: помірна ліпофільність забезпечує оптимальне проникнення через біологічні мембрани, а надмірна може знижувати біодоступність [30]. Додатково наявність гетероатомів, таких як Сульфур або Оксиген, підвищує здатність до взаємодії з біологічними мішенями.

Отже, найбільш перспективними є похідні 1,2,4-тріазолу з комбінованими антиоксидантними, протизапальними та антимікробними властивостями.

## Висновки

1. Систематичний огляд відомостей наукових джерел, що індексуються в міжнародних наукометричних базах даних, підтвердив, що похідні 1,2,4-тріазолу є багатofункціональними агентами для локальної терапії ран, оскільки поєднують антимікробну / антибіоплівкову, антиоксидантну та протизапальну дію та можуть стимулювати клітинну проліферацію й ангіогенез; полімерні системи на їх основі (лігнін- / поліоксазолін- / тріазольні гідрогелі, полі(1-вініл-1,2,4-тріазол)-AgNP) показали біосумісність та релевантні фізико-хімічні параметри для загоєння опікових ран.

2. Визначено ключову роль замісень у положеннях 3 і 5 тріазольного кільця (гідразонні, меркапто-, 3-тіофірні та 4,5-діарильні похідні) у формуванні біоактивності; підтверджено перспективність таргетування запального каскаду.

## Фінансування

Робота виконана у межах НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету на тему: «Створення похідних 1,2,4-тріазолу з поліфармакологічною активністю для потреб військової медицини та постраждалих від бойових дій», за програмою наукових досліджень і розробок, що фінансується з державного бюджету, держреєстрація № 0126U001480 (2026–2028). Додаткового фінансування не отримано.

**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, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5336-3900](https://orcid.org/0000-0002-5336-3900)

Ділягін О. А., аспірант каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: [0009-0000-3238-449X](https://orcid.org/0009-0000-3238-449X)

## Information about authors:

Bushuieva I. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Dilyahin O. A., Postgraduate Student of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.



Інна Бушуєва (Inna Bushuieva)  
valery999@ukr.net

## References

- Borysenko NM, Parchenko VV, Bushuieva IV, Artemenko LP, Chmelova LD, Sukhovi GP. Development of hybrid molecules based on 1,2,4-triazole for combined anticonvulsant therapy. *World Journal of Advanced Pharmaceutical Sciences*. 2025;2(3):94-100. doi: [10.5281/zenodo.17143536](https://doi.org/10.5281/zenodo.17143536)
- Borysenko NM, Bushuieva IV, Parchenko VV, Shmatenko OP, Solomenniy AM, Yerenko OK, et al. In silico study of biological activity of 2-[5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-ylthio]-1-(4-chlorophenylethanone). *Ukrainian Journal of Military Medicine*. 2025;6(2):135-45. doi: [10.46847/ujmm.2025.2\(6\)-135](https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.2(6)-135)
- Prytula RL, Bushuieva IV, Maliuhina OO, Parchenko VV. [Study of the use of 1,2,4-triazole derivatives in soft medicines with antifungal activity by bibliometric method]. *Farmatsevychnyi Zhurnal*. 2025;(2):78-92. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.2.25.07](https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.25.07)
- Karpun EO, Parchenko VV. [Synthesis, physicochemical properties and antihypoxic activity of some S-derivatives of 4-alkyl-5-(((3-(pyridin-4-yl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)methyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol]. *Farmatsevychnyi Zhurnal*. 2020;(6):56-64. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.6.20.06](https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.20.06)
- Ogloblina MV, Bushuieva IV, Parchenko VV. [Review of the research on the influence of different functional substituents of new 1,2,4-triazole derivatives on the compounds biological properties]. *Farmatsevychnyi Zhurnal*. 2022;(5):74-80. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.5.22.08](https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.22.08)
- Dighe AS, Bankar RD, Bangar VB. In silico investigation and molecular docking study of 1,2,4-triazole derivatives for antifungal activity. *Int J Sci Res Arch*. 2025;14(3):1282-90. doi: [10.30574/ijrsra.2025.14.3.0778](https://doi.org/10.30574/ijrsra.2025.14.3.0778)
- Bushuieva IV, Parchenko MV. [Anticancer properties of 1,2,4-triazole derivatives (literature review)]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2024;17(2):197-201. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2024.2.299477](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.299477)
- Siu WS, Ma H, Leung PC. Review on Current Advancements in Facilitation of Burn Wound Healing. *Bioengineering (Basel)*. 2025;12(4):428. doi: [10.3390/bioengineering12040428](https://doi.org/10.3390/bioengineering12040428)
- Bilal IM, Dariy VI, Khilkovets AV, Bilal AI. Current research trends of 1,2,4-triazole derivatives biological activity (literature review). *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2025;18(2):197-205. doi: [10.14739/2409-2932.2025.2.322344](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2025.2.322344)
- Shi H, Li M, Zhou Z, Lu A, Wang Z. Synthesis and Biological Evaluation of Novel 1,2,4-Triazole Derivatives Containing Amino Acid Fragments. *Molecules*. 2025;30(8):1692. doi: [10.3390/molecules30081692](https://doi.org/10.3390/molecules30081692)
- Glomb T, Minta J, Nowosadko M, Radzikowska J, Świątek P. Search for New Compounds with Anti-Inflammatory Activity Among 1,2,4-Triazole Derivatives. *Molecules*. 2024;29(24):6036. doi: [10.3390/molecules29246036](https://doi.org/10.3390/molecules29246036)
- Li SM, Tsai SE, Chiang CY, Chung CY, Chuang TJ, Tseng CC, et al. New methyl 5-(halomethyl)-1-aryl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxylates as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents: design, synthesis, biological evaluation, and docking study. *Bioorg Chem*. 2020;104:104333. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.104333](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104333)

13. Mahata D, Jana M, Jana A, Mukherjee A, Mondal N, Saha T, et al. Lignin-graft-Polyoxazoline Conjugated Triazole a Novel Anti-Infective Ointment to Control Persistent Inflammation. *Sci Rep.* 2017;7:46412. doi: [10.1038/srep46412](https://doi.org/10.1038/srep46412)
14. May A, Kopecki Z, Carney B, Cowin A. Antimicrobial silver dressings: a review of emerging issues for modern wound care. *ANZ J Surg.* 2022;92(3):379-84. doi: [10.1111/ans.17382](https://doi.org/10.1111/ans.17382)
15. Fan Y, Wang H, Wang C, Xing Y, Liu S, Feng L, et al. Advances in Smart-Response Hydrogels for Skin Wound Repair. *Polymers (Basel).* 2024;16(19):2818. doi: [10.3390/polym16192818](https://doi.org/10.3390/polym16192818)
16. Olğaç A, Çapan İ, Dahlke P, Jordan PM, Werz O, Banoglu E. Substituted 1,2,4-Triazoles as Novel and Selective Inhibitors of Leukotriene Biosynthesis Targeting 5-Lipoxygenase-Activating Protein. *ACS Omega.* 2023;8(34):31293-304. doi: [10.1021/acsomega.3c03682](https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03682)
17. Walter AS, Volkmer E, Gauglitz G, Böcker W, Saller MM. Systematic review of molecular pathways in burn wound healing. *Burns.* 2023;49(7):1525-33. doi: [10.1016/j.burns.2023.03.006](https://doi.org/10.1016/j.burns.2023.03.006)
18. Osmokrovic A, Stojkowska J, Krunić T, Petrović P, Lazić V, Zvičević J. Current State and Advances in Antimicrobial Strategies for Burn Wound Dressings: From Metal-Based Antimicrobials and Natural Bioactive Agents to Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2025;26(9):4381. doi: [10.3390/ijms26094381](https://doi.org/10.3390/ijms26094381)
19. Jabbari F, Babaeipour V. Bacterial cellulose as an ideal potential treatment for burn wounds: A comprehensive review. *Wound Repair Regen.* 2024;32(3):323-39. doi: [10.1111/wrr.13163](https://doi.org/10.1111/wrr.13163)
20. Shiraguppi SV, Koganole P, Honnalli SS. A review on 1,2,4-triazoles as scaffold for various pharmacological activities: Review article. *Journal of Pharma Insights and Research.* 2025;3(3):20-7. doi: [10.69613/aewrja40](https://doi.org/10.69613/aewrja40)
21. Borse GR, Bhoi RT, Kale DS, Sonawale SB. Synthesis and multifaceted biological evaluation of 1,2,4-triazoles of natural phenol: From spectral analysis to ADME prediction. *ChemistrySelect.* 2025;10(42):e04277. doi: [10.1002/slct.202504277](https://doi.org/10.1002/slct.202504277)
22. Korol N, Symkanych O, Pallah O, Slivka M, Slanar O. Bis-1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidants for pneumonia therapy. *Sci Rep.* 2026;16(1):5640. doi: [10.1038/s41598-026-36386-5](https://doi.org/10.1038/s41598-026-36386-5)
23. Kumar BC, Rajeshwari R, Prasad TK, Bhagwath A, Rao SS. Synthesis and molecular docking studies of benzimidazole hybrids incorporating 1,3,4-oxadiazole, 1,2,4-triazole and Schiff base as potential anti-breast cancer agents. *Asian J Chem.* 2026;38(3):781-91. doi: [10.14233/ajchem.2026.35442](https://doi.org/10.14233/ajchem.2026.35442)
24. Ouni S, Zouaghi MO, Jmai M, Abdelli A, Gaucher A, Marrot J, et al. Regioselective 1,3-dipolar cycloaddition in the vinyl-1,2,4-triazole series: A straightforward approach to bis-heterocycles. *J Heterocycl Chem.* 2026;63(3):463-73. doi: [10.1002/jhet.70143](https://doi.org/10.1002/jhet.70143)
25. Frolova YS, Kaplaushenko AH, Ihnatova TV, Kaplaushenko TM. Synthesis methods of 1,2,4-triazole-3-thiones: review. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice.* 2024;17(2):187-96. doi: [10.14739/2409-2932.2024.2.302616](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.302616)
26. Aly AA, Hassan AA, Mohamed NK, Abd El-Aal AS, Balboul BAA, Nayl AA, et al. Synthesis, reactions, and biological applications of 1,2,4-triazoles: a review. *Curr Org Chem.* 2025;29(11):841-68. doi: [10.2174/0113852728348836241104024823](https://doi.org/10.2174/0113852728348836241104024823)
27. Ajmal M, Mahato AK, Khan M, Rawat S, Husain A, Almalki EB, et al. Significance of Triazole in Medicinal Chemistry: Advancement in Drug Design, Reward and Biological Activity. *Chem Biodivers.* 2024 Jul;21(7):e202400637. doi: [10.1002/cbdv.202400637](https://doi.org/10.1002/cbdv.202400637)
28. Kumar S, Misra SK, Kashaw SK, Kashaw V, Kumar A. A comprehensive review on 1,2,4-Triazole: Synthesis, properties and therapeutic potential. *Talanta.* 2026;305:129543. doi: [10.1016/j.talanta.2026.129543](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2026.129543)
29. Biegański M, Bidon M, Karpińska M, Rola R, Matysiak J, Niewiadowska A, et al. 1,2,4-triazole incorporated into polyheterocyclic scaffolds as anti-glioblastoma agents: Biological evaluation and molecular modeling studies. *Comput Biol Chem.* 2026;120(Pt 1):108771. doi: [10.1016/j.compbiolchem.2025.108771](https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2025.108771)
30. Mishra P, Singh N, Satya, Siddique A, Joshi S. Multifunctional potential of triazole-based metal-organic frameworks: An overview. *Chemistry of Inorganic Materials.* 2025;7:100111. doi: [10.1016/j.cinorg.2025.100111](https://doi.org/10.1016/j.cinorg.2025.100111)



# Методи високоефективної рідинної хроматографії для визначення каротиноїдів

I. Ф. Дуйон <sup>id</sup><sup>A,C,D,F</sup>, I. М. Кейтлін <sup>id</sup><sup>B,C,D</sup>, Г. В. Мазулін <sup>id</sup><sup>A,C,E</sup>

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

Актуальним напрямом сучасних фармацевтичних досліджень є пошук нових сполук, що можуть ефективно пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення на різних стадіях патологічного процесу. Зважаючи на перспективи практичного застосування, особливу увагу науковців привертають каротиноїди – природні біоантиоксиданти, що характеризуються високою біологічною активністю та мінімальною токсичністю. Основна функція каротиноїдів полягає у захисті клітинних мембран та інших структурних компонентів клітини від ушкоджувальної дії активних форм кисню, що обґрунтовує їхню важливу роль у підтриманні клітинного гомеостазу та профілактиці оксидативного стресу. У зв'язку з цим доцільним є поглиблене вивчення методів аналітичного контролю якості, зокрема визначення чистоти найбільш поширених груп каротиноїдів.

**Мета роботи** – узагальнення та систематизація наукових даних щодо методів аналізу біологічно активних каротиноїдів із використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з перспективою подальшого застосування отриманих результатів для оптимізації лабораторних аналітичних методик.

**Матеріали і методи.** Здійснено інформаційний пошук у наукометричних базах даних Scopus, Web of Science та PubMed. Для досягнення поставленої мети використано аналітичний, описовий та узагальнювальний методи дослідження. Матеріали для дослідження – дані сучасної наукової літератури, що присвячена визначенню чистоти, ідентифікації та структурному аналізу біологічно активних каротиноїдів методом ВЕРХ.

**Результати.** Здійснили аналіз доступних джерел фахової літератури, у яких висвітлено підходи до оцінювання чистоти та структурних особливостей біоактивних каротиноїдів із застосуванням високоефективної рідинної хроматографії. Розглянуто основні хроматографічні параметри, що впливають на селективність і чутливість методу, а також особливості підготовки зразків для аналізу.

**Висновки.** На підставі аналізу сучасних джерел фахової літератури наведено приклади методик якісного та кількісного визначення методом ВЕРХ двох основних груп каротиноїдів – каротинів і ксантофілів. Здійснили порівняльний аналіз цих методик, враховуючи хроматографічні умови, типи нерухомих і рухомих фаз і детекційні підходи. У результаті обґрунтовано вибір оптимальних умов аналізу для подальших наукових і практичних досліджень.

**Ключові слова:** високоефективна рідинна хроматографія, рідинний хроматограф, каротиноїди.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2026. Т. 19, № 2(51). С. 216-226**

## High-performance liquid chromatography methods for carotenoid determination

I. F. Duiun, I. M. Keitlin, G. V. Mazulin

A relevant area of pharmaceutical research is the search for new compounds capable of inhibiting free radical oxidation at various stages of the pathological process. Taking into account the prospects for practical application, particular attention of researchers is focused on carotenoids as natural bioantioxidants characterized by high biological activity and minimal toxicity. The primary function of carotenoids is to protect cellular membranes and other structural components of the cell from the damaging effects of reactive oxygen species, which determines their important role in maintaining cellular homeostasis and preventing oxidative stress. In this context, an in-depth study of analytical quality control methods, particularly the determination of the purity of the most common groups of carotenoids, is of significant interest.

**Aim of the study.** The aim of this study was to generalize and systematize scientific data on the methods of analysis of biologically active carotenoids using high-performance liquid chromatography (HPLC), with the prospect of further application of the obtained results for the optimization of laboratory analytical methods.

**Materials and methods.** An information search was conducted using the following scientometric databases: Scopus, Web of Science, and PubMed. Analytical, descriptive, and generalization methods were applied to achieve the objectives of the study. The research materials

### ARTICLE INFO

UDC 615.32:547.979.8:543.544.5.068.7  
DOI: [10.14739/2409-2932.2026.2.355779](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2026.2.355779)

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):216-226**

**Keywords:** high-performance liquid chromatography, liquid chromatograph, carotenoids.

Received: 30.03.2026 // Revised: 21.05.2026 // Accepted: 27.05.2026

© The Author(s) 2026. This is an open access article under the [Creative Commons CC BY 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

included data from contemporary scientific literature sources addressing the determination of purity, identification, and structural analysis of biologically active carotenoids by HPLC.

**Results.** An analysis of available scientific literature sources was performed, focusing on approaches to the assessment of purity and structural characteristics of bioactive carotenoids using high-performance liquid chromatography. The main chromatographic parameters influencing the selectivity and sensitivity of the method, as well as sample preparation features, were considered.

**Conclusions.** Based on the analysis of current scientific literature, examples of qualitative and quantitative determination methods for two major groups of carotenoids – carotenes and xanthophylls – using HPLC were identified. A comparative analysis of these methods was carried out, taking into account chromatographic conditions, types of stationary and mobile phases, and detection approaches, which substantiates the selection of optimal analytical conditions for further scientific and practical research.

**Keywords:** high-performance liquid chromatography, liquid chromatograph, carotenoids.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2026;19(2):216-226**

Каротиноїди – велика та структурно різноманітна група природних пігментів ліпофільної природи, що належать до класу тетратерпенів і за хімічною будовою є  $C_{40}$ -ізопреновими сполуками. Вони дуже поширені у природі та синтезуються переважно рослинами, водоростями, ціанобактеріями, а також окремими видами бактерій і грибів. У вищих рослин каротиноїди локалізуються переважно у хлоропластах і хромопластах, де виконують важливі біологічні та фізіологічні функції [1,2].

Хімічна структура каротиноїдів складається з восьми ізопренових одиниць, які формують подовжений полієновий ланцюг із великою кількістю спряжених подвійних зв'язків. Саме наявність цієї системи подвійних зв'язків зумовлює характерні спектральні властивості каротиноїдів і забезпечує їхнє інтенсивне забарвлення в жовті, помаранчеві або червоні тони. Водночас така структура визначає високу реакційну здатність каротиноїдів, зокрема їхні антиоксидантні властивості та чутливість до дії світла, кисню й підвищених температур [3].

Залежно від елементного складу молекул каротиноїдів їх класифікують як каротини, тобто ациклічні або циклічні вуглеводні ( $\beta$ -каротин, лікопін,  $\alpha$ -каротин,  $\lambda$ -каротин), та ксантофіли – кисневмісні похідні, що включають гідроксильні, епоксидні або кетонні функціональні групи (лютеїн, зеаксантин, астаксантин тощо).

Біологічно активні каротиноїди є структурними компонентами фотосинтетичного апарату та беруть участь у поглинанні світлової енергії з подальшою передачею її на хлорофіли. Крім того, вони виконують захисну функцію, запобігаючи фотодеструкції хлорофілу та інших клітинних компонентів за умов надмірного освітлення. Завдяки здатності ефективно знешкоджувати активні форми кисню, зокрема синглетний кисень і вільні радикали, каротиноїди мають виражені антиоксидантні властивості. Наявність кисню підвищує полярність ксантофілів, що суттєво впливає на їхню інтеграцію в біологічні мембрани [4,5].

Окремі каротиноїди (насамперед  $\beta$ -каротин) мають статус провітамінів А. У результаті ферментативного розщеплення вони трансформуються в ретинол, необхідний для підтримання зорової функції, процесів проліферації та диференціації епітелію, а також імунної резистентності [6].

До групи каротиноїдів належать такі сполуки, як  $\beta$ -каротин,  $\alpha$ -каротин,  $\gamma$ -каротин,  $\delta$ -каротин,  $\zeta$ -каротин та  $\epsilon$ -каротин. Найбільш вивченим і біологічно значущим є  $\beta$ -каротин, який характеризується найвищою провітамінною активністю. Лікопін, хоча й не виявляє властивостей провітаміну А, є потужним антиоксидантом і зумовлює інтенсивне червоне забарвлення плодів томатів, кавуна та деяких інших рослинних продуктів [6,7].

Ксантофіли, що містять молекулу кисню, характеризуються вищою полярністю порівняно з вуглеводневими каротинами. Наявність гідроксильних (лютеїн, зеаксантин), епоксидних (віолаксантин) або кетогруп (астаксантин, кантаксантин) суттєво змінює їхні фізико-хімічні властивості, зокрема розчинність та амфільність. Ці структурні особливості суттєво впливають на потенціал клітинних мембран: на відміну від каротинів, ксантофіли переважно орієнтуються трансмембранно, що підвищує стабільність мембран і модулює їхню проникність [7].

До специфічних представників ксантофілів належать лютеїн і зеаксантин (дигідроксикаротини), що відіграють критичну роль у функціонуванні зорового аналізатора. Ці сполуки, вибірково накопичуючись у макулярній ділянці сітківки (*macula lutea*), утворюють макулярний пігмент. Їхня функція полягає у фільтрації високоенергетичного синього світла та прямій антиоксидантній нейтралізації активних форм кисню, що запобігає розвитку вікової макулярної дегенерації та фотохімічному ушкодженню фоторецепторів [8].

Похідні ксантофілів астаксантин (3,3'-дигідрокси-4,4'-дикето- $\beta$ -каротин) характеризується вираженим антиоксидантним потенціалом, який за певними показниками перевищує такий у  $\beta$ -каротин та  $\alpha$ -токоферолу. Завдяки унікальній будові він може одночасно нейтралізувати вільні радикали і в гідрофільній, і в гідрофобній зонах мембрани. У гідробіонтів (ряд ракоподібних, лососеві риби) астаксантин не лише зумовлює специфічне червоно-рожеве забарвлення м'язової тканини й екзоскелета, але й бере участь у забезпеченні стресостійкості організму [7,8].

Специфічні ксантофіли, притаманні рослинам роду *Capsicum*, капсантин і капсорубін визначають інтенсивну червону пігментацію плодів, їх визначають як перспективні біоактивні компоненти з ліпотропною та антиканцерогенною діями.

Антиоксидантна дія каротиноїдів базується на інгібуванні пероксидного окиснення ліпідів та елімінації активних форм кисню. Зменшення інтенсивності оксидативного стресу під впливом каротиноїдів є важливим чинником у профілактиці хронічних дегенеративних і серцево-судинних захворювань – однієї з основних причин передчасної смерті та інвалідності населення [9,10]. Крім того, встановлено їхню здатність до синергічної взаємодії з токоферолами та аскорбіновою кислотою, що модулює активність ендогенних ферментативних систем захисту.

Зважаючи на високу терапевтичну значущість і перспективність каротиноїдів як джерел для розробки нових лікарських засобів, актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки є вдосконалення методів стандартизації та контролю чистоти цих сполук.

## Мета роботи

Узагальнення та систематизація наукових даних щодо методів аналізу біологічно активних каротиноїдів із використанням методу високоефективної рідинної хроматографії з перспективою подальшого застосування отриманих результатів для оптимізації лабораторних аналітичних методик.

## Матеріали і методи дослідження

Як завдання наукового дослідження визначили аналіз методів кількісного аналізу каротиноїдів шляхом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Здійснили інформаційний пошук у наукометричних базах Scopus, Web of Science, PubMed; під час роботи використали аналітичний та описовий методи, виконали систематизацію та узагальнення відомостей фахової літератури, що опублікована за останні 5–7 років. Матеріал для дослідження – відомості сучасних джерел наукової літератури щодо результатів досліджень біологічно активних каротиноїдів методом ВЕРХ. Пошук здійснено за такими ключовими словами: high-performance liquid chromatography, liquid chromatograph, carotenoids.

## Результати

У сучасній фаховій літературі визначення та кількісний аналіз основних груп каротиноїдів, зокрема  $\beta$ -каротину,  $\alpha$ -каротину, лікопіну, лютеїну та зеаксантину, здійснюють із застосуванням методу ВЕРХ. Ефективність впровадження сучасного фізико-хімічного методу дослідження в аналізі каротиноїдів ґрунтується на специфічних міжмолекулярних взаємодіях між аналітами, стаціонарною та рухомою фазами [11].

Вибір конкретного варіанта хроматографічного розділення – нормально-фазної (NP-HPLC) або обернено-фазної (RP-HPLC) ВЕРХ – детермінується хімічною структурою досліджуваних сполук та особливостями матриці, до яких належать лікарські форми, рослинна сировина, біологічні рідини, дієтичні добавки та косметичні засоби [11,12]. Підготовка аналітів до хроматографічного

визначення – вкрай важливий етап, що передбачає багаторазову екстракцію з використанням таких органічних розчинників, як ацетон, гексан, ацетонітрил або метанол, часто – у комбінаціях [12].

За даними наукових джерел, зважаючи на високу лабільність полієнових структур та їхню схильність до фотоокиснення, на етапі підготовки зразків доцільним є додавання антиоксидантів (наприклад, бутилгідрокситолуолу). У разі аналізу складних матриць, що містять ліпіди або хлорофіли, проводять процедуру сапоніфікації шляхом обробки екстракту спиртовим розчином луку (KOH у метанолі) з наступною фільтрацією та концентруванням отриманого розчину [12,13,14].

Оскільки каротиноїди є високоліпофільними сполуками, провідним механізмом в обернено-фазному варіанті (RP-HPLC) є дисперсійна взаємодія (сили ван дер Ваальса) між довгим полієновим ланцюгом молекули та алкільними ланцюгами нерухої фази. При використанні найбільш поширених стаціонарних фаз типу C18 (октадецилсиліл), розділення відбувається внаслідок гідрофобної адсорбції.

Відомо, що каротиноїди з більшою кількістю подвійних зв'язків та без полярних функціональних груп (наприклад, лікопін або  $\beta$ -каротин) мають вищу спорідненість до неполярної фази, що зумовлює їх триваліше утримування порівняно з ксантофілами [14].

Наявність гідроксильних або кетогруп у структурі ксантофілів (лютеїну, зеаксантину) створює умови для слабких диполь-дипольних взаємодій із залишковими силанольними групами силікагелю або компонентами рухої фази, що підвищує їхню полярність і пришвидшує елюювання. Особливе значення в аналізі каротиноїдів має застосування стаціонарних фаз C30 (тріаконтил) [12,14].

Фізико-хімічною основою переваги C30 є висока щільність і значна довжина вуглеводневих ланцюгів, що формують товстий гідрофобний шар. Це створює умови для «стеричного розпізнавання» геометрії молекул. Зокрема, лінійні транс-ізмери каротиноїдів здатні глибше інтегруватися в структуру C30-фази порівняно з об'ємними цис-ізомерами, що мають «злам» у вуглецевому скелеті. Таке розрізнення за просторовою конфігурацією дає змогу досягти високої роздільної здатності між геометричними ізомерами, що є критичним для оцінювання біологічної цінності сировини, оскільки транс-форми зазвичай характеризуються вищою біодоступністю [15].

Науковці обґрунтовано доводять, що в нормально-фазному варіанті (NP-HPLC) механізм розділення докорінно змінюється: провідну роль відіграють адсорбційні взаємодії та водневі зв'язки між полярними групами ксантофілів та активними центрами стаціонарної фази (силікагель, аміно- або ціаногрупи) [15,16]. У цьому разі каротини елюються першими через мінімальну взаємодію з полярною поверхнею, а ксантофіли утримуються міцніше залежно від кількості та природи окисгенованих замісників. Розуміння цих термодинамічних і кінетичних аспектів взаємодії дає змогу прецизійно обирати склад

1

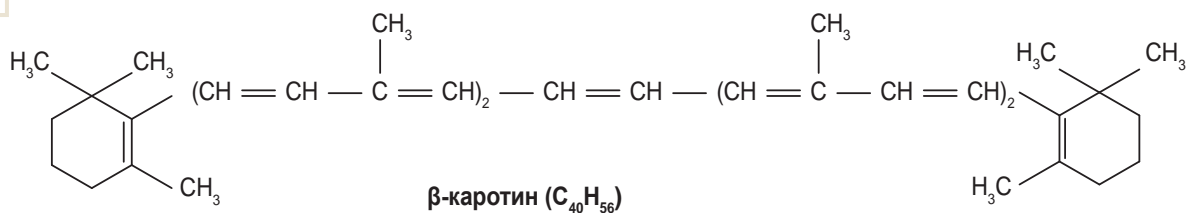


Рис. 1. Формула β-каротину.

Таблиця 1. Характеристика валідаційних параметрів β-каротину

Показник	Типові значення
Лінійність	$r^2 > 0,999$ у діапазоні 1–20 мкг/мл
Межа виявлення	~0,1 мкг/мл
Межа кількісного визначення	~0,3 мкг/мл
Прецизійність	RSD ≤2 %
Правильність	95–105 %

елюентів для досягнення максимальної селективності аналізу [16].

Аналітичне розділення каротиноїдів найчастіше реалізується в умовах обернено-фазної хроматографії з використанням стаціонарних фаз C18 або спеціалізованих колонок C30, що забезпечують вищу селективність щодо геометричних ізомерів. Температурний режим колонки зазвичай підтримують у діапазоні 25–30 °C при швидкості потоку рухомої фази 0,5–1,0 мл/хв. Детектування здійснюють за допомогою УФ-видимих детекторів (DAD або PDA) у діапазоні довжин хвиль 200–500 нм [15].

Специфічне кількісне визначення здійснюють при максимумах поглинання, характерних для окремих сполук: для β-каротину цей показник становить 450–470 нм, для лютеїну та зеаксантину – 445–450 нм, для лікопіну – 470–480 нм. Розроблені методики потребують обов'язкової валідації за параметрами специфічності, правильності, прецизійності (збіжність і внутрішньолабораторна відтворюваність), лінійності, діапазону застосування, робастності, а також визначення меж виявлення (DL) та кількісного визначення (QL) [16].

Оскільки водні системи мають обмежену здатність до елюювання щодо таких гідрофобних аналітів, у RP-HPLC використовують суміші ацетонітрилу, метанолу та тетрагідрофурану (ТГФ). Ацетонітрил забезпечує низьку в'язкість системи та стабільність базової лінії, проте для посилення сили елюювання та покращення розчинності часто додають метанол або ТГФ. Застосування ТГФ є особливо важливим для розділення лікопіну, оскільки він запобігає агрегації молекул і забезпечує симетрію хроматографічних піків. Оптимізація складу елюенту (ізократичний або градієнтний режими) дає змогу досягти чіткого розділення таких структурних ізомерів, як α- та β-каротини, що є необхідною умовою для відповідності

вимогам провідних фармакопей (Ph. Eur., USP) щодо контролю якості препаратів каротиноїдів [17].

**Методологічні аспекти хроматографічного визначення вмісту β-каротину.** β-каротин (рис. 1) за хімічною природою є ліпофільним каротиноїдом із вираженими неполярними властивостями. Ключовою структурною особливістю молекули є розгалужена система з одинадцяти спряжених подвійних зв'язків, що зумовлює її здатність до інтенсивного поглинання світла у видимій області спектра з максимумом приблизно при 450 нм [18,19].

Саме ці фізико-хімічні характеристики лежать в основі вибору аналітичних методів його ідентифікації та кількісного визначення, серед яких провідне місце посідає ВЕРХ із застосуванням УФ-видимого або діодно-матричного детектування (DAD). Процес хроматографічного розділення β-каротину ґрунтується на механізмах класичної гідрофобної взаємодії [19,20].

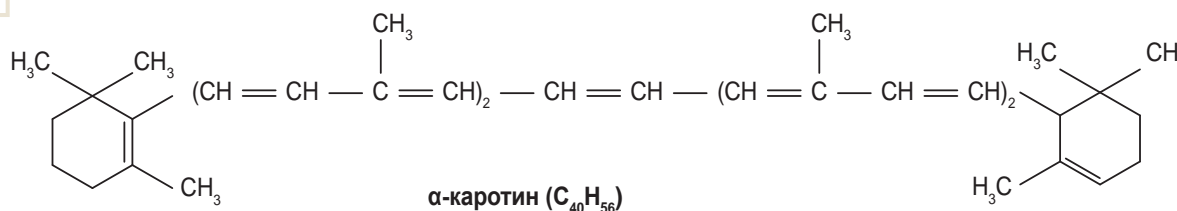
Як «золотий стандарт» для рутинних аналізів визначено нерухомі фази типу C18. Вибір колонок цього типу зумовлений високим ступенем неполярності аналіту, що забезпечує стабільне утримування на сорбенті та відтворюваність результатів в ізократичному режимі елюювання.

Фази C18 мають певні обмеження при необхідності розділення геометричних ізомерів (транс-, 9-цис-, 13-цис- тощо) з подібною полярністю. У таких випадках альтернативним рішенням є використання фази C30, що характеризується довшими алкільними ланцюгами та вищою гідрофобністю. Завдяки специфічній впорядкованості поверхні, фаза C30 має просторову (стеричну) селективність, що дає змогу ефективніше розрізнити ізомери за формою їхніх молекул [20,21,22].

Особливу увагу під час розроблення методики аналізу слід приділяти стабільності сполуки. Оскільки β-каротин є чутливим до впливу світла, кисню та термічного фактора, що призводить до його окиснення та ізомеризації, підготовку проб та екстракцію гексаном необхідно здійснювати в умовах мінімальної освітленості та, за можливості, в інертному середовищі.

У численних наукових публікаціях показано: для стабілізації аналіту до екстракційної суміші доцільно додавати антиоксиданти, зокрема бутилгідрокситолуол (БГТ). Стандартизована процедура кількісного визначення передбачає використання методу зовнішнього стандарту або побудову калібрувальної кривої за площею піка у визначеному діапазоні концентрацій [23,24].

2

Рис. 2. Формула  $\alpha$ -каротину.

Валідаційні параметри підтверджують високу аналітичну надійність методу ВЕРХ у контролі якості фармацевтичної та харчової продукції, що містить каротиноїди (табл. 1) [25].

**Методологічні аспекти хроматографічного визначення  $\alpha$ -каротину.** Подальший аналіз каротиноїдного складу потребує детального розгляду методик визначення  $\alpha$ -каротину (рис. 2). Оскільки  $\alpha$ - та  $\beta$ -каротини є структурними ізомерами, загальні принципи їх розділення методом RP-HPLC мають чимало спільних рис, проте є критичні відмінності, зумовлені особливостями їхньої молекулярної будови.

Відомо, що головна структурна розбіжність полягає у конфігурації іононових кілець: якщо молекула  $\beta$ -каротину містить дві  $\beta$ -іононові групи, то  $\alpha$ -каротин характеризується наявністю однієї  $\beta$ -та однієї  $\alpha$ -іононової групи [26]. Ця, на перший погляд, незначна зміна суттєво впливає на просторову форму молекули, її взаємодію з нерухомою фазою колонки та спектральні характеристики. Зокрема, максимуми поглинання  $\alpha$ -каротину зміщені в короткохвильову область (444–448 нм) порівняно з  $\beta$ -ізомером (450–452 нм), що при використанні діодно-матричного детектора (DAD) дає змогу здійснювати додаткову ідентифікацію аналітів за формою їхніх спектрів.

У хроматографічній практиці вибір нерухомої фази безпосередньо залежить від мети дослідження. Для індивідуального визначення  $\beta$ -каротину як основного компонента зазвичай достатньо використання колонок типу C18.

За сучасними даними, під час аналізу складних сумішей, де містяться обидва ізомери, виникає ризик часткового перекривання піків через близьку гідрофобність сполук. У таких випадках пріоритет віддають колонкам із фазою C30, що завдяки вищій стеричній селективності забезпечують чітке розділення  $\alpha$ - та  $\beta$ - фракцій [27,28].

Методика кількісного визначення передбачає окреме калібрування для кожного ізомеру, оскільки вони мають різні коефіцієнти молярної екстинкції. Типові умови хроматографування включають використання суміші ацетонітрилу, метанолу та тетрагідрофурану як рухомої фази в ізократичному або градієнтному режимах [29,30].

Результати сучасних досліджень, наведені у фаховій літературі, обґрунтовують такі параметри методики (табл. 2) [31]:

Таблиця 2. Характеристика валідаційних параметрів  $\alpha$ -каротину

Показник	Типові значення
Лінійність	$r^2 > 0,999$ у діапазоні 1–20 мкг/мл
Межа виявлення	~0,1 мкг/мл
Межа кількісного визначення	~0,3 мкг/мл
Прецизійність	RSD $\leq 2$ %
Правильність	95–105 %

1. Апаратура та матеріали: система ВЕРХ із DAD/ PDA або УФ-детектором; колонка C18 (наприклад, 250 × 4,6 мм, 5 мкм); мембранні фільтри (0,45 мкм); аналітичні ваги, вортекс, центрифуга;

2. Реактиви та рухома фаза: метанол, ацетонітрил, ТГФ – HPLC grade; гексан – для екстракції; стандарт  $\alpha$ -каротину (чистота  $\geq 95$  %);

3. Хроматографічні умови: колонка – C18, 250 × 4,6 мм, 5 мкм; температура колонки – 25–30 °C (кімнатна); рухома фаза – ацетонітрил : метанол : тетрагідрофуран (60:30:10); режим – ізократичний або градієнтний; швидкість потоку – 1,0 мл/хв. Детектор – PDA або УФ; довжина хвилі для  $\alpha$ -каротину є максимум поглинання  $\approx 444$  нм; об'єм ін'єкції – 20 мкл.

Фахівці акцентують увагу на дотриманні протоколів підготовки проб, що включає такі етапи:

1. Гомогенізація – подрібнена проба (1–2 г);
2. Екстракція – суміш гексан : ацетон : етанол (2:1:1), 10–15 мл із додаванням БГТ;
3. Струшування, ультразвук або нагрівання (до 40 °C);
4. Центрифугування та відбір надосадової рідини;
5. Повторна екстракція (2–3 рази), об'єднання екстрактів;
6. Сушіння екстракту над безводним сульфатом натрію;
7. Упарювання досуха на роторному випарнику (T  $\leq 40$  °C);
8. Розчинення залишку в рухомій фазі (або ацетонітрилі);
9. Фільтрація через мембрану 0,45 мкм.

Отже, незважаючи на єдиний методологічний підхід, визначення  $\alpha$ -каротину потребує вищої селективності системи. У разі аналізу окремих ізомерів доцільним є застосування стандартних фаз C18, проте для прецизійного розділення суміші ізомерів оптимальним є викори-

Таблиця 3. Порівняльна характеристика хроматографічних умов аналізу каротиноїдів

Параметр та умови	$\beta$ -каротин	$\alpha$ -каротин
Визначення окремо	Просте	Рідко роблять окремо
У суміші	Легко	Потребує кращого розділення
Колонка	C18 достатньо	Часто C30
Ризик перекривання	Невеликий	Вищий

3

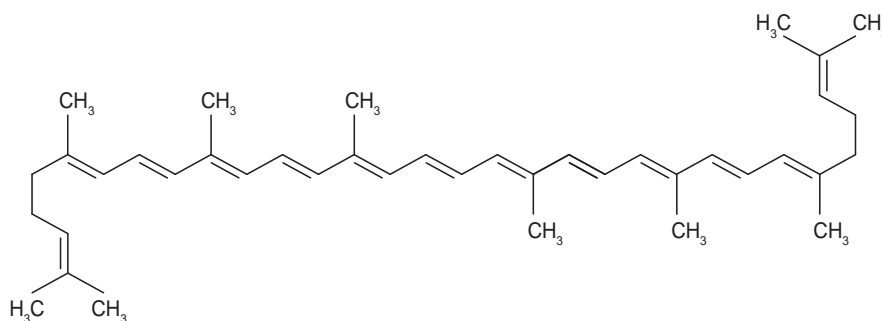


Рис. 3. Формула лікопіну.

Таблиця 4. Характеристика валідаційних параметрів лікопіну

Параметр	Типові значення
Лінійність	$r^2 > 0,999$ у діапазоні 1–20 мкг/мл
Межа виявлення	~0,05–0,1 мкг/мл
Межа кількісного визначення	~0,15–0,3 мкг/мл
Прецизійність (RSD)	$\leq 2$ %
Правильність	95–105 %

стання спеціалізованих колонок із фазою C30 (табл. 3) [31,32,33].

**Методологічні аспекти хроматографічного визначення лікопіну методом ВЕРХ.** Відомо, що визначення лікопіну (рис. 3) в об'єктах рослинного походження та фармацевтичних препаратах ґрунтується на застосуванні методу RP-HPLC у поєднанні з високоселективним спектрофотометричним детектуванням [16,34].

Лікопін є ациклічним каротиноїдом, структура якого повністю представлена вуглеводневим ланцюгом без кисневмісних функціональних груп. Така будова зумовлює його екстремальну ліпофільність і наявність унікальної системи з 11 спряжених подвійних зв'язків, що є фізико-хімічним базисом для його ідентифікації. Процес хроматографічного розділення реалізується завдяки гідрофобним взаємодіям між молекулою лікопіну та алкільними ланцюгами нерухомої фази (зазвичай октадецилсилан, C18) [34,35,36].

Внаслідок високої гідрофобності лікопін характеризується значним часом утримування, елююючись пізніше за більш полярні каротиноїди. Детектування аналіту ґрунтується на явищі інтенсивного світлопоглинання у видимій області спектра, зумовленого  $\pi \rightarrow \pi^*$  елек-

тронними переходами в системі спряжених полієнів. Максимум поглинання лікопіну визначають у діапазоні 470–475 нм, що забезпечує високу селективність методу: більшість супутніх матричних компонентів у цій області спектра не поглинають [36].

Використання діодно-матричного детектора (PDA/DAD) дає змогу додатково контролювати спектральну чистоту піка та диференціювати лікопін від  $\beta$ -каротину, що має відмінний спектральний профіль [36].

Практична реалізація методики потребує суворого контролю умов екстракції та аналізу через високу схильність лікопіну до окиснення, фотодеградації та термоіндукованої транс-цис ізомеризації.

Хроматографічні умови: колонка – C18, 250  $\times$  4,6 мм, 5 мкм; температура – 25–30  $^{\circ}$ C; рухома фаза – ацетонітрил : метанол : тетрагідрофуран (60:30:10) або ацетонітрил : метанол (70:30); режим елюювання – ізократичний або градієнтний; швидкість потоку – 1,0 мл/хв; детектор – PDA/DAD [37].

У результаті аналізу відомостей наукової літератури визначено параметри протоколів підготовки проб, що передбачає гомогенізацію зразка з наступною багатоетапною екстракцією сумішшю гексану, ацетону та етанолу. Для забезпечення стабільності аналіту екстракцію здійснюють при мінімальному освітленні, використовуючи дегазовані розчинники та додаючи антиоксиданти (наприклад, БГТ) [38,39]. Процедура включає такі етапи:

1. Екстракція – суміш гексан : ацетон : етанол (2:1:1), струшування 10–15 хв, можливе використання УЗД;
2. Центрифугування – 10 хв при 4000 об./хв;
3. Відбір верхнього (гексанового) шару;
4. Повторна екстракція (2–3 рази), об'єднання гексанових шарів;

4

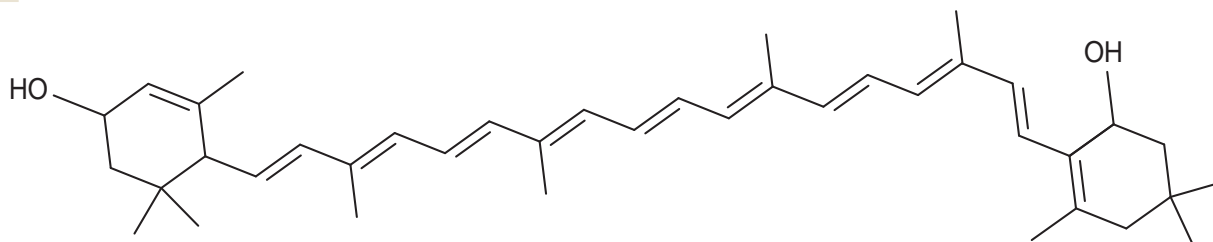


Рис. 4. Формула лютеїну.

5. Промивання дистильованою водою для видалення ацетону та етанолу;

6. Сушіння екстракту над безводним сульфатом натрію;

7. Випаровування досуха під азотом або у вакуумі при  $\leq 40$  °С;

8. Розчинення сухого залишку в 2 мл рухомої фази;

9. Фільтрація через мембранний фільтр 0,45 мкм.

Отриманий гексановий екстракт промивають водою, сушать над безводним натрію сульфатом та упарюють у вакуумі або в струмені азоту при температурі, що не перевищує 40 °С. Кількісне визначення здійснюють шляхом побудови калібрувальної кривої за площею піка стандартних розчинів лікопіну (концентраційний діапазон 1–20 мкг/мл).

Встановлено, що використання рухомої фази ацетонітрил : метанол : тетрагідрофуран (60:30:10) забезпечує оптимальну роздільну здатність і відтворюваність результатів. Застосування цього методу дає змогу здійснювати прецизійний моніторинг вмісту лікопіну, що є критично важливим для стандартизації сировини й оцінювання якості готових лікарських форм (табл. 4) [39,40].

Для точного розділення цис-/транс-ізомерів лікопіну доцільно використовувати колонку С30, що забезпечує кращу селективність для каротиноїдів.

**Методологічні аспекти визначення лютеїну методом ВЕРХ.** Для визначення лютеїну (рис. 4) методом ВЕРХ найчастіше застосовують обернено-фазову колонку (С18), оскільки вона забезпечує ефективне розділення каротиноїдів, зокрема лютеїну та зеаксантину, що мають дуже подібну хімічну структуру [41,42].

Визначення вмісту лютеїну в рослинній сировині та фармацевтичних препаратах потребує застосування високоселективних методів аналізу, серед них провідне місце посідає RP-HPLC. Лютеїн належить до групи ксантофілів – оксигенованих каротиноїдів, молекула яких містить дві гідроксильні групи (-ОН) на кінцях іононових кілець [42].

Наявність цих полярних замісників зумовлює специфіку його хроматографічної поведінки: незважаючи на загальну ліпофільність молекули, лютеїн має вищу полярність порівняно з вуглеводневими каротиноїдами, як-от  $\alpha$ - і  $\beta$ -каротином. Ця властивість є ключовою під час вибору складу рухомої фази та прогнозуванні часу утримування сорбентом.

В основі механізму хроматографічного розділення – розподільний механізм між неполярною нерухомою фазою (традиційно – алкільні ланцюги С18 або спеціалізовані С30) та полярною рухомою фазою. Через наявність гідроксильних груп лютеїн утримується на колонці менш інтенсивно, ніж лікопін або  $\beta$ -каротин, що дає змогу досягти оптимальної селективності шляхом прецизійного налаштування складу елюенту [43,44].

Ефективність розділення ґрунтується на поєднанні двох факторів: гідрофобної взаємодії, що забезпечується розподілом молекули між фазами залежно від її помірної полярності, та спектральних характеристик, оскільки завдяки розгалуженій системі спряжених подвійних зв'язків лютеїн має характерний спектр поглинання із максимумом у діапазоні 445–450 нм. Це дає змогу використовувати діодно-матричні (PDA/DAD) або UV-Vis детектори для селективної ідентифікації речовини навіть у складних багатокомпонентних сумішах каротиноїдів.

Процес підготовки проб – ключовий етап, оскільки каротиноїди характеризуються високою фото- та термолабільністю. Процедура зазвичай включає екстракцію органічними розчинниками (суміші ацетону, метанолу та гексану) протягом 15–30 хв у захищеному від світла місці [44].

Особливу увагу слід приділити стадії омилення (saponification). Оскільки в рослинних об'єктах лютеїн часто перебуває в етерифікованій формі (ефіри жирних кислот), лужний гідроліз дає змогу вивільнити вільний лютеїн для коректного кількісного аналізу. Фінальний етап підготовки передбачає обов'язкову фільтрацію через мембранні фільтри з розміром пор 0,22 мкм для захисту хроматографічної системи [45].

Для досягнення високої роздільної здатності при хроматографуванні використовують обернено-фазові колонки. Стандартні фази С18 (наприклад, Waters Symmetry або Phenomenex Luna) дають змогу отримати хороші результати, для аналізу складних сумішей ізомерів (зокрема, розділення лютеїну та зеаксантину) пріоритетним є використання колонок YMC Carotenoid C30. Довші алкільні ланцюги фази С30 сприяють кращому розпізнаванню геометричних цис-/транс-ізомерів [43,46].

Типові системи рухомих фаз включають градієнтні або ізократичні умови та суміші метанолу, ацетонітрилу та

ТГФ. Додавання ТГФ часто необхідне для покращення розчинності каротиноїдів у системі. Для запобігання деградації аналітів безпосередньо в елюент рекомендують додавати антиоксиданти, наприклад, 0,1 % БГТ. Оптимальна швидкість потоку становить 0,5–1,0 мл/хв при температурі термостата колонок 25–30 °С.

Нерухома фаза: колонка C18 (RP-HPLC) – Waters Symmetry C18, розмір частинок 5 мкм, розмір  $4,6 \times 250$  мм; YMC Carotenoid C30 (якщо потрібне якісніше розділення з зеаксантином та іншими каротиноїдами) – спеціалізована колонка C30 (з довголанцюговою фазою), розмір  $4,6 \times 250$  мм, частинки 3–5 мкм, забезпечує краще розділення ізомерів (наприклад, цис-/транс-форм, лютеїн / зеаксантин); Phenomenex Luna C18(2), розмір  $4,6 \times 150$  або  $250$  мм, частинки 5 мкм; Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18.

Кількісний аналіз здійснюють методом зовнішнього стандарту з використанням сертифікованих еталонних зразків високої чистоти. Концентрацію обраховують на основі побудови калібрувальної залежності площі піка від концентрації розчину [46].

Відповідно до міжнародних стандартів (ICH, настанови фармакопей), розроблена методика потребує обов'язкової валідації за такими параметрами: специфічність – здатність методу чітко розділяти лютеїн і його найближчий структурний ізомер зеаксантин; лінійність – коефіцієнт кореляції ( $r^2$ ) має бути не менше ніж 0,999 у робочому діапазоні концентрацій; чутливість – визначення межі виявлення та межі кількісного визначення; прецизійність – відтворюваність результатів у межах однієї серії та в різні дні аналізу.

Отже, дійшли висновку, що використання методу RP-HPLC із застосуванням колонок C18 або C30 є найбільш обґрунтованим підходом для стандартизації лютеїновмісних об'єктів. Завдяки врахуванню полярності гідроксильних груп і специфічних спектральних властивостей ксантофілів цей метод характеризується високою точністю, надійністю та відтворюваністю результатів аналізу [46,47].

Обмеження методу ВЕРХ (HPLC) при аналізі каротиноїдів зумовлені властивостями сполук, й особливостями методу. По-перше, каротиноїди є нестабільними: вони чутливі до світла, легко окиснюються ( $O_2$ ) та ізомеризуються (транс  $\rightarrow$  цис), що призводить до втрат під час пробопідготовки, зміни складу зразка та викривлення результатів. По-друге, пробопідготовка є складною й часто включає екстракцію (часто багатоступеневу), сапоніфікацію (хоч і не завжди, але доволі часто потрібна), очищення та концентрування. Ці чинники зумовлюють трудомісткість процесу, підвищують ризик втрат аналітів і варіабельність результатів. По-третє, додаткові труднощі виникають під час розділення: через подібність структур і наявність ізомерів можливе перекриття піків і помилки ідентифікації; застосування колонок C30 покращує ситуацію, але збільшує тривалість аналізу та його вартість. По-четверте, селективність детекції обмежена (переважно використовують UV-Vis/DAD), оскільки каротиноїди мають подібні спектри й часто потребують стандартів

для надійної ідентифікації. Метод також є витратним (дорогі колонки, розчинники, стандарти) і тривалим (довгі градієнти, складна пробопідготовка). Важливим обмеженням є й вимоги до розчинників: через гідрофобність каротиноїдів використовують специфічні системи (гексан, МТВЕ, ацетон), не завжди сумісні з ВЕРХ без додаткових етапів.

У підсумку метод не є універсальним: різні матриці потребують різних методик, і єдиного рішення для всіх випадків досі немає.

## Обговорення

Аналіз сучасних джерел наукової літератури дав змогу навести приклади методів аналізу каротиноїдів з використанням ВЕРХ [11,12,13,14]. Аналіз публікацій щодо методик визначення чистоти каротиноїдів дав підстави зробити висновок, що сучасні підходи є науково обґрунтованими та мають спільні методологічні засади. Це дає змогу їх узагальнити, систематизувати та використовувати надалі для оптимізації аналітичного контролю якості каротиноїдовмісних сполук.

Сильно гідрофобні сполуки, що не мають або майже не мають у структурі полярних функціональних груп, аналізують методом нормально-фазної ВЕРХ із неполярними розчинниками у складі рухомої фази (ацетон, гексан) [12,13,14]. Більш полярні сполуки аналізують методом обернено-фазної ВЕРХ із більш полярними розчинниками у складі рухомої фази (ацетонітрил, метанол, ТГФ). Аналітичні довжини хвиль мають бути більшими, ніж величини UV-cut off застосовуваних розчинників. Зауважимо, що каротиноїди здебільшого є речовинами, що легко окиснюються, тому під час аналізу застосовують консервант БГТ [20,21].

Процес пробопідготовки передбачає екстракцію цільової речовини (чи речовин) органічними розчинниками, у яких буде розчинятися цільова речовина (чи речовини) [21].

Щодо вибору нерухомих фаз, то узагальнення цього питання є ускладненим у зв'язку зі значною різноманітністю хімічної будови речовин, зокрема йдеться про мінливість їхньої молекулярної структури, полярність, ступінь кон'югації та наявність різних функціональних груп. Ці структурні відмінності зумовлюють відмінний характер міжмолекулярних взаємодій з нерухомою фазою, що потребує індивідуального підходу до її вибору для забезпечення оптимальної селективності, роздільної здатності та відтворюваності аналітичних результатів.

Біологічно активні каротини, що є джерелом потенційних лікарських засобів (вуглеводневі каротиноїди), як-от  $\alpha$ -каротин,  $\beta$ -каротин, лікопін і лютеїн, є суто гідрофобними сполуками, без жодної полярної групи в хімічній структурі. Їх утримування на гідрофобній поверхні нерухомої фази є «класичною» обернено-фазною взаємодією і здійснюється за допомогою безводних розчинників: ацетонітрилу, метанолу та ТГФ (останній застосовують саме для розділення особливо гідрофобних сполук). Для

Таблиця 5. Оптимальні умови ВЕРХ-аналізу каротиноїдів

Параметр	Умови для рутинного аналізу каротиноїдів	Умови для розділення ізомерів каротиноїдів
Нерухома фаза	Октадецилсиліл (C18), 250 × 4,6 мм, 5 мкм	C30-колонки або октаатриаконтисилікагель (C30 bonded phase) 250 × 4,6 мм, 5 мкм
Рухома фаза	Ацетонітрил : метанол : ТГФ (60:30:10)	Ацетонітрил : метанол : ТГФ (в ізократичному або градієнтному режимі)
Швидкість потоку	0,5–1,0 мл/хв	1,0 мл/хв
Температура	25–30 °С	25–30 °С
Детектування	DAD / PDA / УФ (200–500 нм)	DAD / PDA / УФ (200–500 нм), додатково контроль спектральної чистоти піка

Таблиця 6. Стандартизований протокол підготовки зразків

Етап	Умови пробопідготовки	Мета етапу
Гомогенізація	подрібнення наважки (1–2 г)	– подрібнення та руйнування клітинної структури зразка; – збільшення площі контакту з розчинником; – підвищення ефективності та повноти екстракції каротиноїдів; – забезпечення однорідності проби
Екстракція	суміш гексан : ацетон : етанол (2:1:1) + антиоксидант (БГТ)	– вилучення каротиноїдів із матриці зразка за допомогою суміші розчинників різної полярності; – забезпечення повного вилучення і неполярних, і більш полярних каротиноїдів; – запобігання окисненню та деградації каротиноїдів (завдяки антиоксиданту БГТ)
Сапоніфікація	обробка спиртовим розчином КОН	гідроліз ефірів каротиноїдів (перехід у вільні форми); видалення ліпідів (омилення тригліцеридів); руйнування / поляризація хлорофілів для їх наступного видалення
Очищення	промивання водою, сушіння над Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	– видалення полярних домішок і залишків водорозчинних компонентів шляхом промивання водою; – видалення залишкової вологи з органічної фази (сушіння над Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ); – отримання очищеного екстракту, придатного для аналізу методом ВЕРХ
Концентрування	упарювання при T ≤40 °С у вакуумі або струмені азоту	– видалення екстракційних розчинників; – підвищення концентрації каротиноїдів у пробі; – підготовка до розчинення у рухомій фазі або сумісному розчиннику для ВЕРХ
Фільтрація	мембранні фільтри 0,45 мкм, PTFE або PVDF мембрани	– видалення механічних домішок і завислих частинок; – захист хроматографічної колонки та системи ВЕРХ; – забезпечення стабільності та відтворюваності аналізу

вилучення цільової речовини з матриці застосовують тільки гексан із наступним випаровуванням [22,23,24,25].

Ксантофіли (кисневмісні каротиноїди), як-от лютеїн, містять кілька полярних гідроксогруп, що «пом'якшує» їхні гідрофобні властивості. У методах визначення методом ВЕРХ це помітно одразу: екстракцію з матриці можна здійснювати, крім гексану, і більш поширеними розчинниками, наприклад, ацетоном чи метанолом. У складі рухомої фази, крім безводних полярних розчинників (метанол, ТГФ), може бути вода, що свідчить про більш «м'які» обернено-фазні умови поділу [16,33,34,35].

Щодо хроматографічних колонок, то жодних переваг для різних фаз C18 не виявлено. Разом із тим, є рекомендації застосовувати спеціальні фази Carotenoid C30 – спеціалізовані колонки C30 (з довголанцюговою фазою), що можуть забезпечити краще розділення ізомерів (наприклад, цис-/транс-форм, лютеїн / зеаксантин) [15,16].

Наведені валідаційні показники показують оптимальні результати в лінійній регресії ( $r^2 > 0,999$ ), високу чут-

ливість (близько 0,05–0,10 мкг/мл) і досить низькі межі кількісного визначення (0,15–0,30 мкг/мл), а також низькі значення RSD для показника повторюваності ( $\leq 2\%$ ) та високі значення відсотка відновлення (95–105%). Усе це свідчить про стабільність і надійність методик [44,45,46,47].

Узагальнені та систематизовані результати аналізу відомостей наукової літератури щодо ВЕРХ-методів визначення каротиноїдів наведено у таблицях 5, 6.

## Висновки

1. На основі аналізу сучасних джерел фахової літератури систематизовано дані щодо фізико-хімічних властивостей і біологічної активності ключових представників каротиноїдів – каротинів і ксантофілів. Високий терапевтичний потенціал цих сполук як антиоксидантів із мультимодальним механізмом дії зумовлює необхідність впровадження стандартизованих високоселективних методів аналізу для використання у фармацевтичній практиці.

2. Наведено методологічні аспекти ВЕРХ-аналізу: здійснено порівняльний аналіз сучасних методик визначення каротиноїдів методом ВЕРХ та обґрунтовано оптимальні параметри хроматографування.

3. Наведено та систематизовано ключові валідаційні характеристики аналітичних методик (лінійність, специфічність, прецизійність, межі виявлення та кількісного визначення).

4. Підтверджено відтворюваність і придатність обраних умов ВЕРХ, що дає змогу рекомендувати їх для стандартизації рослинної сировини та контролю якості каротиноїдовмісних лікарських засобів.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у здійсненні подібних оглядів для інших груп біологічно активних сполук природного походження та порівнянні методик ВЕРХ, що використовують під час аналізу різних груп природних сполук.

#### Фінансування

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

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

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

#### Відомості про авторів:

Дуюн І. Ф., PhD, старший викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0000-0003-1134-2543

Кейтлін І. М., канд. фарм. наук, викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0009-0006-6684-6860

Мазулін Г. В., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-4227-7388

#### Information about the authors:

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

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

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



Ірина Дуюн (Iryna Duiun)  
duyun77@ukr.net

#### References

- Li Y, Zhao Y, Zhang H, Ding Z, Han J. The Application of Natural Carotenoids in Multiple Fields and Their Encapsulation Technology: A Review. *Molecules*. 2024;29(5):967. doi: 10.3390/molecules29050967
- Sun T, Rao S, Zhou X, Li L. Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Mol Hort*. 2022;2(1):3. doi: 10.1186/s43897-022-00023-2
- González-Peña MA, Ortega-Regules AE, Anaya de Parrodi C, Lozada-Ramírez JD. Chemistry, Occurrence, Properties, Applications, and Encapsulation of Carotenoids-A Review. *Plants (Basel)*. 2023;12(2):313. doi: 10.3390/plants12020313
- Takaichi S. Distribution, biosynthesis, and function of carotenoids in oxygenic phototrophic algae. *Mar Drugs*. 2025;23(2):62. doi: 10.3390/md23020062
- Malyugina EA, Mazulin AV, Mazulin GV, Smoylovskaya GP, Logvin PA. [The study of the carotenoid content in the inflorescences of the spreading marigold]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2013;(3):89-91. Ukrainian.
- Tufail T, Bader UI Ain H, Noreen S, Ikram A, Arshad MT, Abdullahi MA. Nutritional Benefits of Lycopene and Beta-Carotene: A Comprehensive Overview. *Food Sci Nutr*. 2024;12(11):8715-41. doi: 10.1002/fsn3.4502
- Jurja S, Negreanu-Pirjol T, Vasile M, Hincu MM, Coviltir V, Negreanu-Pirjol BS. Xanthophyll pigments dietary supplements administration and retinal health in the context of increasing life expectancy trend. *Front Nutr*. 2023; 10:1226686. doi: 10.3389/fnut.2023.1226686
- Gholipour-Varnami K, Mohamadnia S, Tavakoli O, Faramarzi MA. A review on the biological activities of key carotenoids: Structures, sources, market, economical features, and stability. *Food Biosci*. 2025;68(106529):106529. doi: 10.1016/j.fbio.2025.106529
- Varynskyi BO, Kaplaushenko AG. The development and validation of HPLC-DMD method for intermediate products impurities determination of morpholinium 2-((4-(2-methoxyphenyl)-5-(pyridine-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate in bulk drug. *Zaporozhye Medical Journal*. 2017;19(3):373-80. doi: 10.14739/2310-1210.2017.3.100947
- Singh A, Omer K. Recent advancement in therapeutic activity of carotenoids. In: *Physiology*. IntechOpen; 2024. Available from: 10.5772/intechopen.112580
- Amorim-Carrilho KT, Cepeda A, Fente C, Regal P. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends Analyt Chem*. 2014;56:49-73. doi: 10.1016/j.trac.2013.12.011
- Vendruscolo RG, Fernandes AS, Fagundes MB, Zepka LQ, de Menezes CR, Jacob-Lopes E, et al. Development of a new method for simultaneous extraction of chlorophylls and carotenoids from microalgal biomass. *J Appl Phycol*. 2021;33(4):1987-97. doi: 10.1007/s10811-021-02470-8
- Kurek MA, Aktaş H, Pokorski P, Pogorzelska-Nowicka E, Custodio-Mendoza JA. A comprehensive review of analytical approaches for carotenoids assessment in plant-based foods: Advances, applications, and future directions. *Appl Sci (Basel)*. 2025;15(7):3506. doi: 10.3390/app15073506
- Enggi CK, Mahardika F, Devara DM, Saputra MD, Wafiah N, Raihan M, et al. HPLC-UV method validation for quantification of  $\beta$ -carotene in the development of sustained release supplement formulation containing solid dispersion-floating gel in situ. *J Pharm Biomed Anal*. 2022; 221:115041. doi: 10.1016/j.jpba.2022.115041
- Meléndez-Martínez AJ, Mandić AI, Bantis F, Böhm V, Borge G, Brnčić M, et al. A comprehensive review on carotenoids in foods and feeds: *status quo*, applications, patents, and research needs. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022;62(8):1999-2049. doi: 10.1080/10408398.2020.1867959
- Xu J, Lin J, Peng S, Zhao H, Wang Y, Rao L, et al. Development of an HPLC-PDA Method for the Determination of Capsanthin, Zeaxanthin, Lutein,  $\beta$ -Cryptoxanthin and  $\beta$ -Carotene Simultaneously in Chili Peppers and Products. *Molecules*. 2023;28(5):2362. doi: 10.3390/molecules28052362
- European Pharmacopoeia Commission (EDQM). *European Pharmacopoeia, monograph of Betacarotene*. 11th ed. Strasbourg; 2024.
- Mazurets SI, Kovalov SV, Rudnyk AM. Fitokhimichne vyyvchennia lipofilnoi fraktsii z lystia khmeliu zvychainoho. *Zaporozhye Medical Journal*. 2012;(3): 96-9. Ukrainian.
- Dincel D, Kepekci-Tekkeli SE, Önal C, Önal A, Sagirli O. Liquid chromatographic analysis of carotenoids in foods. *J Chil Chem Soc*. 2019;64(2):4492-5. Available from: <https://jccchems.com/index.php/JCCHEMS/article/view/1220/323>
- Saini RK, Prasad P, Lokesh V, Shang X, Shin J, Keum YS, et al. Carotenoids: Dietary Sources, Extraction, Encapsulation, Bioavailability, and Health Benefits-A Review of Recent Advancements. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(4):795. doi: 10.3390/antiox11040795
- Lyu X, Ying D, Zhang P, Fang Z. Effect of whole tomato powder or tomato peel powder incorporation on the color, nutritional, and textural properties of extruded high moisture meat analogues. *Food Bioprocess Technol*. 2024;17(1):231-44. doi: 10.1007/s11947-023-03133-x
- Yu ZW, Wang J, Lin FH, He FM, Li HS, Wang SS, et al. A comprehensive study on solvent effect and establishment of n-hexane solvent system based normal-phase liquid chromatography  $\times$  reversed-phase liquid chromatography for isolation of natural products. *J Chromatogr A*. 2024;1733:465278. doi: 10.1016/j.chroma.2024.465278

23. Hsu BY, Lin CH, Kao TH. Development of a Rapid UPLC Method for Analysis of Carotenoids in Goji Berry Extract and Evaluation of Their Transformation Affected by Saponification. *Molecules*. 2024;29(23):5684. doi: [10.3390/molecules29235684](https://doi.org/10.3390/molecules29235684)
24. Papapostolou H, Kachrimanidou V, Alexandri M, Plessas S, Papadaki A, Kopsahelis N. Natural Carotenoids: Recent Advances on Separation from Microbial Biomass and Methods of Analysis. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(5):1030. doi: [10.3390/antiox12051030](https://doi.org/10.3390/antiox12051030)
25. Dordai L. A fast HPLC method for the determination of beta-carotene and lycopene from *Daucus carota*. *Nat Resour Sustain Dev*. 2023;13(1):195-202. doi: [10.31924/nrsd.v13i1.128](https://doi.org/10.31924/nrsd.v13i1.128)
26. De Luca C, Buratti A, Krauke Y, Stephan S, Monks K, Brighenti V, et al. Investigating the effect of polarity of stationary and mobile phases on retention of cannabinoids in normal phase liquid chromatography. *Anal Bioanal Chem*. 2022;414(18):5385-95. doi: [10.1007/s00216-021-03862-y](https://doi.org/10.1007/s00216-021-03862-y)
27. Jin H, Lao YM, Zhou J, Zhang HJ, Cai ZH. Simultaneous determination of 13 carotenoids by a simple C18 column-based ultra-high-pressure liquid chromatography method for carotenoid profiling in the astaxanthin-accumulating *Haematococcus pluvialis*. *J Chromatogr A*. 2017; 1488:93-103. doi: [10.1016/j.chroma.2017.01.088](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.01.088)
28. Lawler T, Liu Z, Nalbandy M, Liu Y, Hammond B, Wallace RB, et al. Lutein and zeaxanthin supplement use is associated with increased macular pigment density over 15 years and greater contrast sensitivity in the Carotenoids in Age-Related Eye Disease Study of older-adult women. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2021;62(8):2950. Available from: <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2775628>
29. Fraterrigo Garofalo S, Mallen V, Fino D. Extraction of carotenoids from tomato pomace using deep eutectic solvents composed of short and medium-chain fatty acids and menthol. *Food Chem*. 2025;484:144342. doi: [10.1016/j.foodchem.2025.144342](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144342)
30. Bas TG. Bioactivity and Bioavailability of Carotenoids Applied in Human Health: Technological Advances and Innovation. *Int J Mol Sci*. 2024;25(14):7603. doi: [10.3390/ijms25147603](https://doi.org/10.3390/ijms25147603)
31. Schmidt M, Böhm V. Investigating alternative solvents regarding extractability of lipophilic food ingredients in spinach-tomato powder and algae materials. *Food Anal Methods*. 2025;18(8):1850-62. doi: [10.1007/s12161-025-02821-y](https://doi.org/10.1007/s12161-025-02821-y)
32. Jiang Y, Ye J, Hu Y, Zhang J, Li W, Zhou X, et al. Extraction and Synthesis of Typical Carotenoids: Lycopene,  $\beta$ -Carotene, and Astaxanthin. *Molecules*. 2024;29(19):4549. doi: [10.3390/molecules29194549](https://doi.org/10.3390/molecules29194549)
33. Morón-Ortiz A, Mapelli-Brahm P, Meléndez-Martínez AJ. Sustainable Green Extraction of Carotenoid Pigments: Innovative Technologies and Bio-Based Solvents. *Antioxidants (Basel)*. 2024;13(2):239. doi: [10.3390/antiox13020239](https://doi.org/10.3390/antiox13020239)
34. Gebregziabher BS, Zhang S, Qi J, Azam M, Ghosh S, Feng Y, et al. Simultaneous determination of carotenoids and chlorophylls by the HPLC-UV-VIS method in soybean seeds. *Agronomy (Basel)*. 2021;11(4):758. doi: [10.3390/agronomy11040758](https://doi.org/10.3390/agronomy11040758)
35. Hammond BR, Renzi-Hammond L. The influence of the macular carotenoids on women's eye and brain health. *Nutr Neurosci*. 2023;26(8):720-6. doi: [10.1080/1028415X.2022.2084125](https://doi.org/10.1080/1028415X.2022.2084125)
36. Rathi DN, Rashed AA, Noh M. Determination of retinol and carotenoids in selected Malaysian food products using high-performance liquid chromatography (HPLC). *SN Appl Sci*. 2022;4(4). doi: [10.1007/s42452-022-04955-8](https://doi.org/10.1007/s42452-022-04955-8)
37. Singh H, Singh G, Bhatia R. Development and validation of analytical method for simultaneous estimation of lutein, lycopene, and beta-carotene using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Pharmaspire*. 2020;12(2):55-60. Available from: [https://www.isfcpharmaspire.com/uploads/228/13830\\_pdf.pdf](https://www.isfcpharmaspire.com/uploads/228/13830_pdf.pdf)
38. Alnokkari AS. Optimizing analytical methods to determine lycopene levels in Syrian tomatoes from various regions. *Agric Sci Dig – Res J*. 2023;(Of). Available from: [10.18805/ag.df-550](https://doi.org/10.18805/ag.df-550)
39. Przybylska S, Tokarczyk G. Lycopene in the Prevention of Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022;23(4):1957. doi: [10.3390/ijms23041957](https://doi.org/10.3390/ijms23041957)
40. Arballo J, Amengual J, Erdman JW Jr. Lycopene: A Critical Review of Digestion, Absorption, Metabolism, and Excretion. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(3):342. doi: [10.3390/antiox10030342](https://doi.org/10.3390/antiox10030342)
41. Bhavin SE, Anuradha G. Development and validation of an RP-HPLC method for estimating nutraceutical lutein. *Int J Health Sci (IJHS)*. 2022;6(S1):9039-50. doi: [10.53730/ijhs.v6ns5.9039](https://doi.org/10.53730/ijhs.v6ns5.9039)
42. Sutharsan J, Adler L, Jones A, Arcot J. Quantification of macular carotenoids over a wide dynamic range in plant matrices and Caco-2 cells using a single transferable analytical method. *Foods*. 2026;15(6):981. doi: [10.3390/foods15060981](https://doi.org/10.3390/foods15060981)
43. Melfi MT, Nardiello D, Cicco N, Candido V, Centonze D. Simultaneous determination of water- and fat-soluble vitamins, lycopene and beta-carotene in tomato samples and pharmaceutical formulations: Double injection single run by reverse-phase liquid chromatography with UV detection. *J Food Compos Anal*. 2018;70:9-17. doi: [10.1016/j.jfca.2018.04.002](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.04.002)
44. Craft NE, Springs DG, Chavan J. Lutein HPLC method comparison and validation. *FASEB J*. 2016;30(S1). doi: [10.1096/fasebj.30.1\\_supplement.689.5](https://doi.org/10.1096/fasebj.30.1_supplement.689.5)
45. Olmedilla-Alonso B, Granado-Lorencio F, Castro-Feito J, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Estévez-Santiago R. Bioavailability of Lutein from Marigold Flowers (Free vs. Ester Forms): A Randomised Cross-Over Study to Assess Serum Response and Visual Contrast Threshold in Adults. *Nutrients*. 2024;16(10):1415. doi: [10.3390/nu16101415](https://doi.org/10.3390/nu16101415)
46. Wu B, Li X, Zheng X, Zhao J, Qiao L, Zheng J. A simple and robust HPLC method to analyze lutein in wheat. *Methods X*. 2022; 9:101926. doi: [10.1016/j.mex.2022.101926](https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101926)
47. Anwar S, Nayak JJ, Alagoz Y, Wojtalewicz D, Cazzonelli CI. Purification and use of carotenoid standards to quantify cis-trans geometrical carotenoid isomers in plant tissues. *Methods Enzymol*. 2022;670:57-85. doi: [10.1016/bs.mie.2022.01.005](https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.01.005)