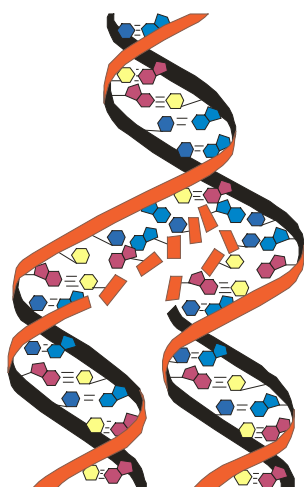


Тернопільський національний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України  
Інститут фармакології та токсикології НАМН України

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine  
Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine*

# MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

**3(105)** TOM 27  
**2025**



Видавничий дім  
«Гельветика»  
2025

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*
  
- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 2410-681X

Виходить щоквартально  
Published 4 times per year

Заснований у січні 2011 р.  
Founded in January 2011

Реєстрація суб'єкта у сфері друкованих медіа:  
Рішення Національної ради України  
з питань телебачення № 1551 від 23.11.2023 року.  
Ідентифікатор медіа: R30-02200

Суб'єкт у сфері друкованих медіа:  
Тернопільський національний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я  
України (Майдан Волі, буд. 1, м. Тернопіль, 46001,  
university@tdmu.edu.ua, тел. +380 352 524492;  
+380 67 8802161)

Registration of Print media entity:  
Decision of the National Council of Television  
and Radio Broadcasting of Ukraine:  
Decision No. 1551 as of 23.11.2023. Media ID: R30-02200

Media entity: Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical  
University of the Ministry of Health of Ukraine (Maidan  
Voli, 1, Ternopil, university@tdmu.edu.ua, phone:+380 352  
524492; +380 67 8802161)

Передплатний індекс: 22869  
Subscription index: 22869

Журнал включено в категорію "Б" Переліку наукових  
фахових видань України, в яких можуть публікуватися  
результати дисертаційних робіт на здобуття наукових  
ступенів доктора і кандидата медичних, біологічних  
та фармацевтичних наук за спеціальностями Е1, Н6, І2, І8  
(наказ МОН України від 11.07.2019 р. № 975).

Журнал включено до Міжнародної наукометричної бази  
даних Index Copernicus.

Рекомендовано до видання вченою радою  
Тернопільського національного медичного університету  
імені І. Я. Горбачевського  
Міністерства охорони здоров'я України  
(протокол № 15 від 30 вересня 2025 р.).

**АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:**  
Журнал "Медична та клінічна хімія"  
Майдан Волі, 1  
46001, м. Тернопіль  
УКРАЇНА

**EDITORIAL OFFICE ADDRESS:**  
Journal "Medical and Clinical Chemistry" Maidan  
Voli, 1  
46001, Ternopil  
UKRAINE

Tel.: + 38 (063) 822 51 44  
ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC  
e-mail: mcc.tdmu@gmail.com

При передруці або відтворенні повністю  
чи частково матеріалів журналу "Медична  
та клінічна хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал «Медична та клінічна хімія», 2025  
© Scientific Journal "Medical and Clinical Chemistry", 2025

## Зміст

## Contents

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

### ORIGINAL RESEARCHES

- О. М. Коршун, Д. С. Мілохов*  
ВИЗНАЧЕННЯ ФЛОНІКАМІДУ В ТОМАТАХ  
І ТОМАТНОМУ СОКУ МЕТОДОМ  
ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ  
ХРОМАТОГРАФІЇ З МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИМ  
ДЕТЕКТУВАННЯМ 5
- М. С. Гнатюк, О. Б. Слабий, Б. І. Довгий,  
Л. В. Татарчук*  
СТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА М'ЯЗОВОЇ  
ОБОЛОНКИ СЕЧОВОГО МІХУРА ТА ЗМІНИ  
ЇЇ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ В УМОВАХ  
ПІСЛЯРЕЗЕКЦІЙНОЇ ПОРТАЛЬНОЇ  
ГІПЕРТЕНЗІЇ 15
- Ю. С. Кравчук, М. М. Корда*  
ВПЛИВ ЗБАГАЧЕНОЇ МОЛЕКУЛЯРНИМ ВОДНЕМ  
ВОДИ НА ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО  
СТРЕСУ В ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ  
СИНДРОМОМ 21
- Н. В. Горлачук*  
РОЗРОБКА УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ ПРЕГАБАЛІНУ  
ІЗ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН 29
- О. О. Бадюк, М. І. Марущак*  
ГОРМОНАЛЬНІ ПОРУШЕННЯ У ЖІНОК  
З НЕПЛІДДЯМ ТА ЗАПАЛЬНИМИ  
ЗАХВОРЮВАННЯМИ ОРГАНІВ МАЛОГО ТАЗА  
НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ 34
- Р. Д. Левчук*  
ВПЛИВ ГОСТРОЇ КРОВОВТРАТИ НА ДИНАМІКУ  
ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У СЕРЦІ  
ЩУРІВ ІЗ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЮ ТРАВМОЮ,  
ТУПОЮ ТРАВМОЮ ЖИВОТА  
ТА СКЕЛЕТНОЮ ТРАВМОЮ 39
- Л. І. Будніак, О. О. Pokotylo, Н. І. Kramar,  
І. Р. Bilyk, R. Yu. Basaraba, Yu. Yu. Plaskonis*  
ANALYSIS OF PRICE CONJUNCTURE  
AND REIMBURSEMENT OF MEDICINES  
USED IN THE TREATMENT OF OBSTRUCTIVE  
AIRWAY DISEASES 49
- М. І. Дручок, Л. С. Логойда*  
РОЗРОБКА ВЕРХ-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ  
КАРБОПЛАТИНУ В ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ  
ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ СОЛЕЙ ХАОТРОПНИХ  
АНІОНІВ 57
- Н. О. Зарівна*  
ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ  
ДЛЯ РОЗРОБКИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ  
МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ  
БІСОПРОЛОЛУ ФУМАРАТУ  
ЗА РЕАКЦІЮ  
З БРОМКРЕЗОЛОВИМ ПУРПУРОВИМ  
У ТАБЛЕТКАХ «БІСОПРОЛ» 68
- О. М. Korshun, D. S. Milokhov*  
DETERMINATION OF FLONICAMID IN TOMATOES  
AND TOMATO JUICE  
BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY  
WITH MASS SPECTROMETRY DETECTION 5
- M. S. Hnatjuk, O. B. Slabyy, B. I. Dovggy,  
L. V. Tatarchuk*  
STRUCTURAL RECONSTRUCTION  
OF THE MUSCLE OF THE URINARY BLADDER  
AND CHANGES IN ITS ENERGY SUPPLYING  
IN THE CONDITIONS AT POSTRESECTION  
PORTAL HYPERTENSION 15
- Yu. S. Kravchuk, M. M. Korda*  
THE EFFECT OF WATER ENRICHED  
WITH MOLECULAR HYDROGEN  
ON OXIDATIVE STRESS INDICATORS  
IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME 21
- N. V. Horlachuk*  
DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR ISOLATION  
OF PREGABALIN FROM BIOLOGICAL FLUIDS 29
- O. O. Badiuk, M. I. Marushchak*  
HORMONAL DISORDERS IN WOMEN  
WITH INFERTILITY AND PELVIC INFLAMMATORY  
DISEASES AGAINST THE BACKGROUND  
OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS 34
- R. D. Levchuk*  
THE INFLUENCE OF ACUTE BLOOD LOSS  
ON THE DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION  
IN THE RAT'S HEART WITH TRAUMATIC BRAIN  
INJURY, BLUNT ABDOMINAL TRAUMA,  
AND SKELETAL TRAUMA 39
- L. I. Budniak, O. O. Pokotylo, H. I. Kramar,  
I. P. Bilyk, R. Yu. Basaraba, Yu. Yu. Plaskonis*  
ANALYSIS OF PRICE CONJUNCTURE  
AND REIMBURSEMENT OF MEDICINES  
USED IN THE TREATMENT OF OBSTRUCTIVE  
AIRWAY DISEASES 49
- M. I. Druchok, L. S. Logoyda*  
DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD  
FOR THE DETERMINATION OF CARBOPLATIN  
IN MEDICINAL PRODUCTS USING SALTS OF  
CHAOTROPIC ANIONS 57
- N. O. Zarivna*  
OPTIMIZATION OF SAMPLE PREPARATION  
CONDITIONS FOR DEVELOPMENT  
OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD  
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF BISOPROLOL FUMARATE BY REACTION  
WITH BROMOCRESOL PURPLE IN BISOPROLOL  
TABLETS 68

*М. М. Горин*  
РОЗРОБКА ВЕРХ-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ  
НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ  
З ВИКОРИСТАННЯМ ПІДХОДУ  
«ЯКІСТЬ ШЛЯХОМ РОЗРОБКИ»  
(QUALITY BY DESIGN)

*M. M. Horyn*  
DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD  
FOR THE DETERMINATION  
OF NIFEDIPINE IN DRUGS  
USING THE APPROACH  
75 "QUALITY BY DESIGN"

О. М. Коршун, Д. С. Мілохов

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

## ВИЗНАЧЕННЯ ФЛОНІКАМІДУ В ТОМАТАХ І ТОМАТНОМУ СОКУ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ З МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИМ ДЕТЕКТУВАННЯМ

**Вступ.** Флонікамід – новий системний інсектицид із вибірковою дією з класу піридинкарбоксамідів, контроль за залишковими кількостями якого, згідно із сучасними вимогами Європейської комісії, слід здійснювати з урахуванням його двох метаболітів.

**Мета дослідження** – розробка методики визначення флонікаміду (як суми флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG, яка виражена як флонікамід) для контролю встановлених медико-санітарних нормативів у поматах і томатному соку.

**Методи дослідження.** Хроматографічний аналіз проводили на рідинному хроматографі Shimadzu Nexera X2 з триквартупольним мас-спектрометричним детектором Shimadzu LCMS-8050 із використанням хроматографічних сталевих колонок Raptor<sub>TM</sub> Biphenyl 2.7  $\mu$ m 100  $\times$  2.1 mm та Kinetex<sup>®</sup> 2.6  $\mu$ m C18 100 E 100  $\times$  2.1 mm. Підготовку зразків поматів, томатного соку виконували на основі методології QuEChERS.

**Результати й обговорення.** Результати, які були отримані під час застосування на досліджуваних колонках різних рухомих фаз, варіантів елюювання та режимів введення проби, продемонстрували перевагу колонки Kinetex<sup>®</sup> 2.6  $\mu$ m C18 100 E 100  $\times$  2.1 mm для аналізу флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG за градієнтного елюювання рухомою фазою (елюент А – 0,1%-й водний розчин мурашиної кислоти; елюент В – 0,1%-й розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі) та ко-інжекції.

Вибрані MRM-переходи: флонікаміду – (ESI+) 230 > 203, 230 > 148; TFNG – (ESI+) 249 > 203, 249 > 148; TFNA – (ESI+) 192 > 148, 192 > 98.

Оптимальні умови хроматографування та мас-спектрометричного детектування дали змогу здійснювати визначення флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG в підготовлених за методологією QuEChERS пробах поматів, томатного соку з межею кількісного визначення (для кожної сполуки) 0,01 мг/кг.

**Висновки.** Методика визначення флонікаміду (як суми флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG в перерахунку на флонікамід) в поматах і томатному соку з межею кількісного визначення 0,03 мг/кг (у кожній матриці) забезпечує контроль встановлених медико-санітарних нормативів відповідно до міжнародних вимог та норм.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** пестициди; метаболіти; межа кількісного визначення; методологія QuEChERS; аналітичні методи; медико-санітарні нормативи.

**ВСТУП.** Пестицидний препарат на основі флонікаміду вперше в Україні був зареєстрований у 2021 році [1]. Флонікамід (хімічна назва за IUPAC – *N*-ціанометил-4-(трифлуорометил)нікотинамід) – системний інсектицид із вибірковою дією з класу піридинкарбоксамідів, який швидко пригнічує харчову поведінку комах, є інгібітором нікотинамідази їх хордо-тонального органу [2–5].

Реєстрація в Україні препарату Флоніки, ВГ (флонікамід, 500 г/кг) для захисту поматів потребує методики визначення діючої речовини в поматах і томатному соку. Згідно із сучасними вимогами Європейської комісії контроль залишкових кількостей флонікаміду в сільськогосподарській продукції слід

здійснювати з урахуванням його двох метаболітів – TFNA та TFNG (хімічні назви за IUPAC – 4-(трифлуорометил)нікотинова кислота та *N*-(4-(трифлуорометил)нікотиніол) гліцин відповідно) [2; 6].

**Мета дослідження** – розробка методики визначення флонікаміду (як суми флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG, яка виражена як флонікамід) для контролю встановлених медико-санітарних нормативів у поматах і томатному соку.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для виконання дослідження використовували аналітичні стандарти флонікаміду та його метаболітів – TFNA та TFNG, 98,56–99,9 % чистоти; хімічні реактиви кваліфікації: LC-MS Ultra фірми

Sigma-Aldrich, for HPLC, gradient grade,  $\geq 99.9\%$  фірми Sigma-Aldrich, Reagent Grade  $\geq 99.5\%$  фірми Honeywell, ACS Reagent  $\geq 99.5\%$  фірми Honeywell Fluka.

Вихідний стандартний розчин кожної з досліджуваних речовин містив 100 мкг сполуки в 1 мл ацетонітрилу. Змішуванням цих вихідних розчинів і розведенням ацетонітрилом готували робочий розчин суміші з масовою концентрацією кожної сполуки 20 мкг/мл. Із цього розчину послідовним розведенням ацетонітрилом готували робочі розчини суміші досліджуваних речовин із масовою концентрацією кожної сполуки 2; 1; 0,8; 0,4; 0,2 та 0,1 мкг/мл. Останні розчини використовували для приготування градувальних розчинів і контрольних розчинів суміші флонікаміду, TFNA та TFNG в екстрактах контрольних проб томатів, томатного соку, а також для внесення в модельні проби томатів, томатного соку.

Хроматографічний аналіз проводили на рідинному хроматографі Shimadzu Nexera X2 з триквадрольним мас-спектрометричним детектором Shimadzu LCMS-8050 із використанням хроматографічних сталевих колонок Raptor™ Biphenyl 2.7  $\mu\text{m}$  100  $\times$  2.1 mm та Kinetex® 2.6  $\mu\text{m}$  C18 100 Å 100  $\times$  2.1 mm.

Підготовку зразків томатів, томатного соку виконували на основі методології QuEChERS [7].

Правильність визначення зазначених сполук у пробах томатів, томатного соку

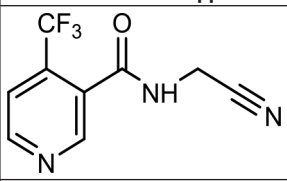
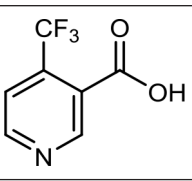
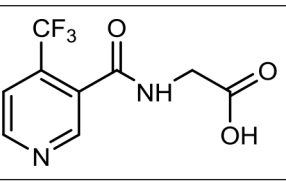
підтверджували методом «введено – знайдено», прецизійність – проведенням повторних вимірювань у заданих умовах. Ідентифікацію досліджуваних сполук в екстрактах проб здійснювали за часом їх утримування та значенням  $m/z$  характеристичних іонів в градувальних розчинах; кількісне визначення проводили за відповідною залежністю площі хроматографічного піку речовини від концентрації в градувальному розчині (метод абсолютного градування або метод зовнішнього стандарту).

Статистичну обробку результатів виконували із застосуванням пакета статистичних програм IBM SPSS StatisticsBase v.22 та MS Excel. Під час статистичного аналізу отриманих даних використовували дескриптивну статистику, кореляційний і регресійний аналізи. Адекватність отриманих рівнянь регресії перевіряли за F-статистикою Фішера.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Структурні формули та фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук наведені в табл. 1 [2; 3].

Для підбору оптимальних умов визначення досліджуваних сполук здійснювали аналіз їх сумішевих розчинів в ацетонітрилі на рідинному хроматографі з триквадрольним мас-спектрометричним детектором із використанням в різних умовах двох хроматографічних сталевих колонок – Raptor™ Biphenyl 2.7  $\mu\text{m}$  100  $\times$  2.1 mm та Kinetex® 2.6  $\mu\text{m}$  C18 100 Å 100  $\times$  2.1 mm (попередньо

Таблиця 1 – Фізико-хімічні властивості флонікаміду та його метаболітів – TFNA та TFNG [2; 3]

Ознака	Досліджувана сполука		
	Флонікамід	TFNA	TFNG
Структурна формула			
Хімічна формула	$\text{C}_9\text{H}_6\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$	$\text{C}_7\text{H}_4\text{F}_3\text{NO}_2$	$\text{C}_9\text{H}_7\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$
Молекулярна маса	229,2	191,1	248,2
CAS RN	158062-67-0	158063-66-2	207502-65-6
Коефіцієнт розподілу (pH 7, 20 °C) $K_{ow}$ , log P	0,1	–	–
Константа дисоціації (25 °C) pKa	11,6	–	–
Розчинність у воді (20 °C), г/л	5,3	–	–
Розчинність в органічних розчинниках (20–25 °C), г/л	ацетон – 186,7; ацетонітрил – 146,1; метанол – 110,6; етилацетат – 33,9; дихлорметан – 4,5; н-октанол – 3,0; толуол – 0,55; гексан – 0,0002	–	–

аналізували розчини в ацетонітрилі кожної з досліджуваних сполук для її подальшої ідентифікації в сумішевому розчині). Під різними умовами мається на увазі застосування двох складів рухомої фази (РФ) – РФ 1 та РФ 2, двох варіантів елюювання – ізократичного та градієнтного, двох способів введення проби – інжекції та ко-інжекції (табл. 2).

На колонці Biphenyl із застосуванням РФ 1 як в умовах ізократики, так і градієнта спостерігали деформовані (асиметричні, роздвоєні) піки флонікаміду, TFNA та TFNG (рис. 1 – D), що, ймовірно, є наслідком ефекту вторинного утримування сполук у зв'язку з їх сильною адсорбцією. За ізократичного елюювання з високим вмістом ацетонітрилу (70 %) у складі РФ 1 утримування сполук відбувалося краще, ніж за градієнтного елюювання. За низького вмісту ацетонітрилу в складі РФ 1 у режимі інжекції деформація піків була виражена більшою мірою порівняно з ко-інжекцією, що може бути зумовлено нерівномірністю процесу адсорбції.

За використання РФ 2 в умовах ізократики на цій же колонці (Biphenyl) досліджувані сполуки утримуються гірше (піки дуже широкі й деформовані); в умовах градієнта дещо краще утримується флонікамід; застосування ко-інжекції несуттєво покращує форму піків (рис. 1 – А, В, С).

Загалом стосовно аналізу флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG на колонці

Biphenyl можна зробити висновки: 1) утримування досліджуваних сполук краще відбувається за РФ 1 (рис. 1 – D), ніж за РФ 2 (рис. 1 – С); 2) РФ 2 для аналізу досліджуваних метаболітів практично неприйнятна (рис. 1 – А, В, С); 3) градієнт під час аналізу флонікаміду (рис. 1 – С) дещо ефективніший, ніж ізократика (рис. 1 – В); 4) ко-інжекція (в умовах і ізократики, і градієнта) покращує процес утримування та розділення в колонці порівняно з інжекцією (рис. 1 – В та А відповідно).

На колонці C18 з РФ 2 утримування було неприйнятним для TFNA і TFNG у всіх досліджуваних варіантах хроматографування: градієнт / ізократика, інжекція / ко-інжекція (рис. 2 – А). Можна зробити висновок, що кислотності РФ 2 недостатньо для утримування на колонці C18 метаболітів TFNA і TFNG, але аналіз флонікаміду в умовах градієнта та ко-інжекції допустимий.

За використання РФ 1 на колонці C18 в умовах ізократики та інжекції вперше отримали задовільне утримування всіх трьох сполук (рис. 2 – В), результат став кращим у разі застосування ко-інжекції (рис. 2 – С), у варіанті градієнта та ко-інжекції (рис. 1 – D) піки сполук стали симетричними.

Порівнюючи хроматограми А та С (рис. 2), відмінності в отриманні яких полягають у застосуванні під час розділення на колонці C 18 рухомих фаз різних складів – РФ 2 та

Таблиця 2 – Інформація про дослідження вибору оптимальних умов одночасного аналізу на рідинному хроматографі флонікаміду, TFNA та TFNG

Параметр		Скорочене позначення
<i>Змінювані параметри</i>		
Хроматографічна колонка	Raptor™ Biphenyl 2.7 μm 100 × 2.1 mm	Biphenyl
	Kinetex® 2.6 μm C18 100 Å 100 × 2.1 mm	C18
Рухома фаза	Елюент А – 0,1%-й водний розчин мурашиної кислоти	РФ 1
	Елюент В – 0,1%-й розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі	
	Елюент А – 2 ммол/л формиата амонія + 0,002 % мурашиної кислоти у воді	РФ 2
	Елюент В – 2 ммол/л формиата амонія + 0,002 % мурашиної кислоти в метанолі	
Елюювання	Ізократика – за різних співвідношень елюентів А та В	Ізократика
	Градієнт – 5 % В (0–1 хв) → 75 % В (4 хв) → 90 % В (4,5–5,5 хв) → 5 % В (7,5–8 хв)	Градієнт
Інжекування	Інжекція – 4 мкл	Інжекція
	Ко-інжекція – сумісне введення 4 мкл проби з 40 мкл елюента А рухомої фази	Ко-інжекція
<i>Незмінювані параметри</i>		
Об'ємна витрата рухомої фази	0,3 мл/хв	–
Температура термостата колонки	40 °С	–

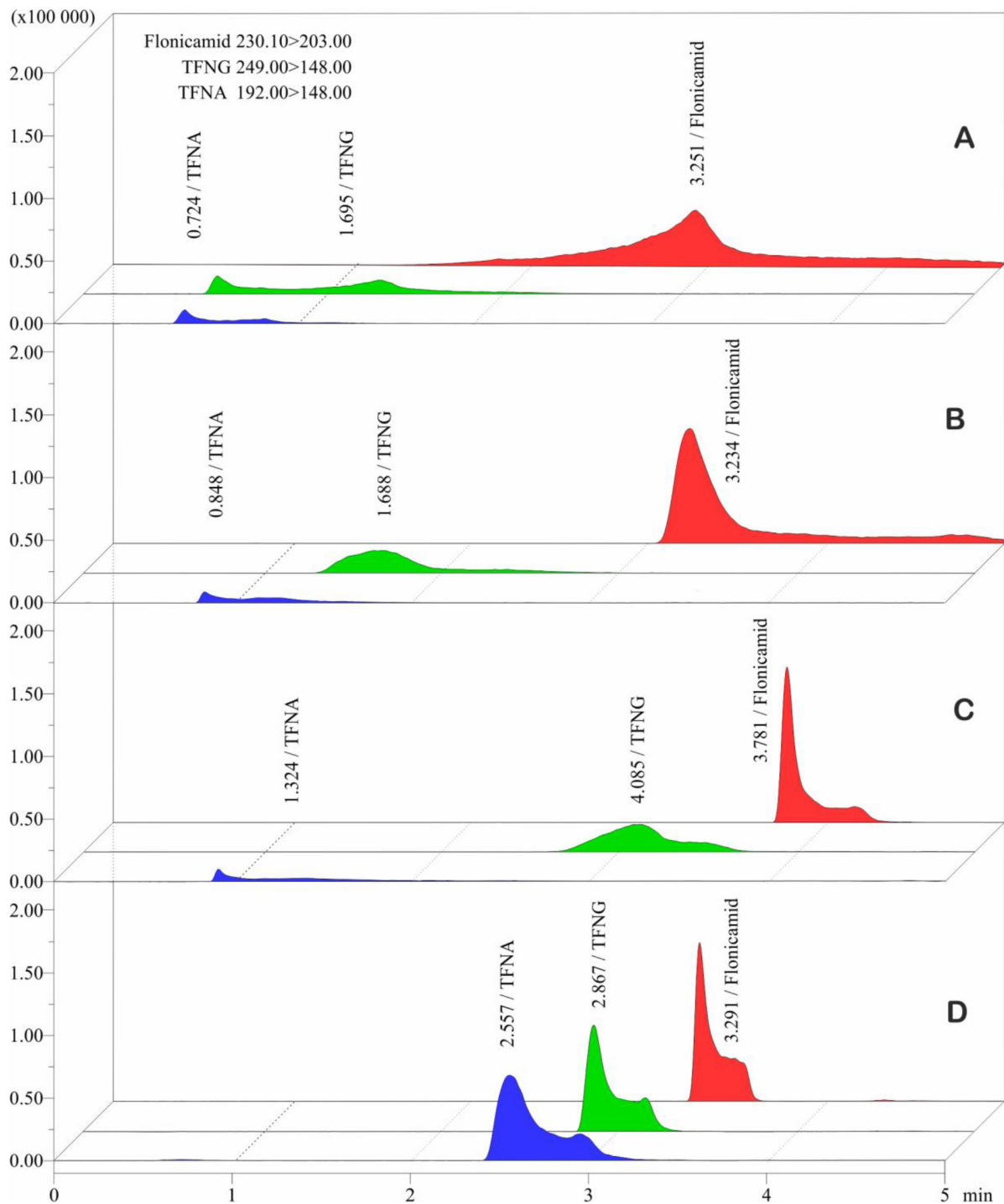


Рис. 1. Хроматограми сумішевого розчину флонікаміду, TFNA та TFNG в ацетонітрилі, які отримані під час аналізу на колонці Virphenyl: А – РФ 2; ізократика; інжекція; В – РФ 2; ізократика; ко-інжекція; С – РФ 2; градієнт; ко-інжекція; D – РФ 1; градієнт; ко-інжекція

РФ 1 відповідно, перевагу слід надати РФ 1. Порівнюючи хроматограми В та С (рис. 2), відмінності в отриманні яких полягають у застосуванні під час розділення на колонці С 18 різного виду інжектування – інжекції та ко-інжекції відповідно, перевагу слід надати ко-інжекції.

Аналізуючи результати, які були отримані під час застосування на колонках Virphenyl та С 18 двох РФ, двох варіантів елюювання та двох режимів введення проби, та враховуючи, що для оцінки ризику та здійснення моніторингу потрібно визначати три складові залишків (флонікамід, TFNA і TFNG),

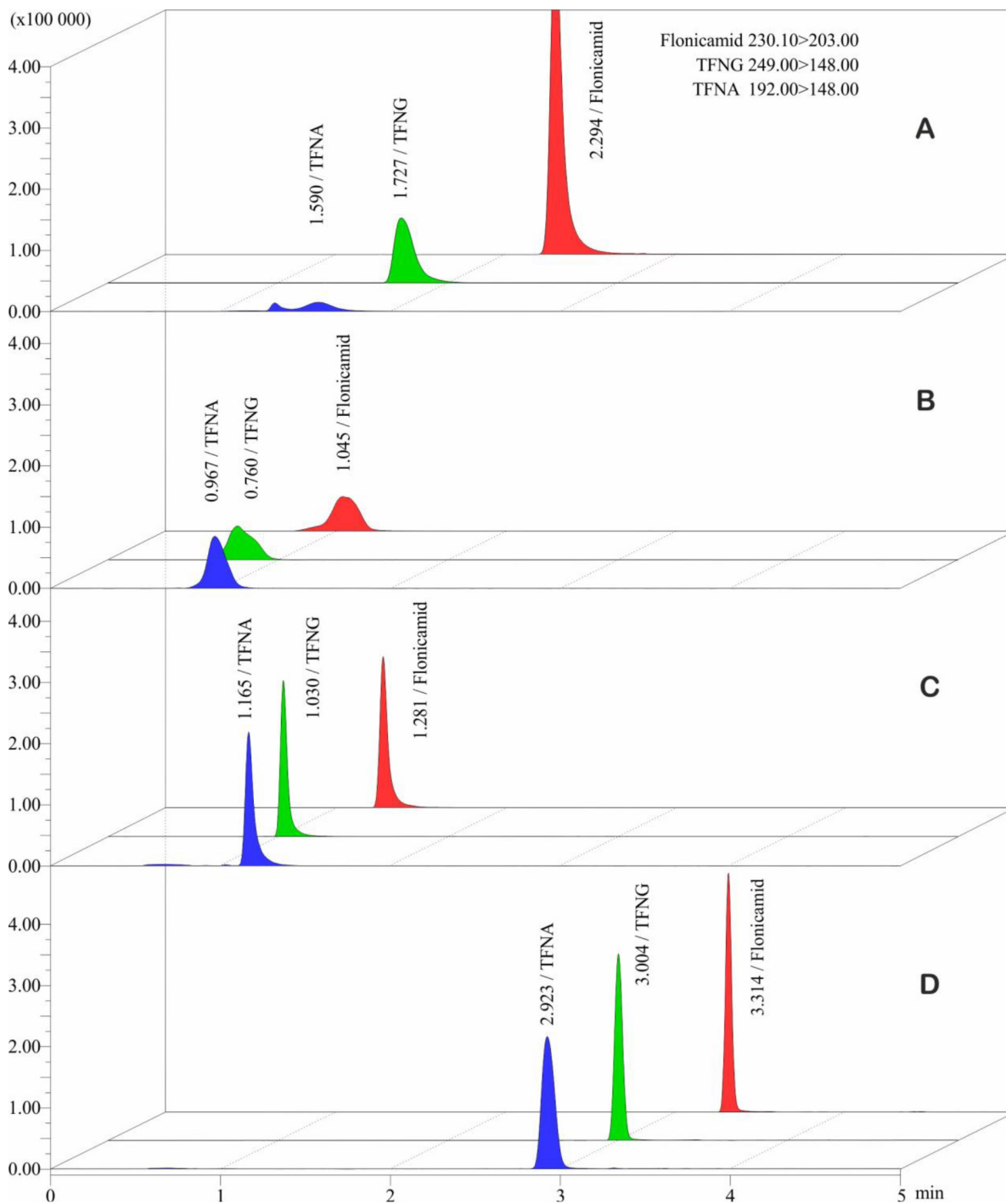


Рис. 2. Хроматограми сумішевого розчину флонікаміду, TFNA та TFNG в ацетонітрилі, які отримані під час аналізу на колонці С 18: А – РФ 2; ізократика; ко-інжекція; В – РФ 1; ізократика; інжекція; С – РФ 1; ізократика; ко-інжекція; D – РФ 1; градієнт; ко-інжекція

за кінцеві умови хроматографування трьох досліджуваних сполук ми вибрали умови: колонка С 18, РФ 1, градієнт, ко-інжекція (рис. 2 – D).

За допомогою функції оптимізації параметрів моніторингу множинних реакцій (MRM) із застосуванням індивідуальних розчинів досліджуваних сполук в ацетонітрилі були

автоматично визначені масові переходи MRM і специфічні для сполук параметри мас-спектрометра.

Хроматографічний аналіз суміші флонікаміду, TFNA і TFNG в екстрактах контрольних проб томатів був проведений у позитивному (ESI+) та негативному (ESI-) режимах електроспрей-іонізації для різних визначених

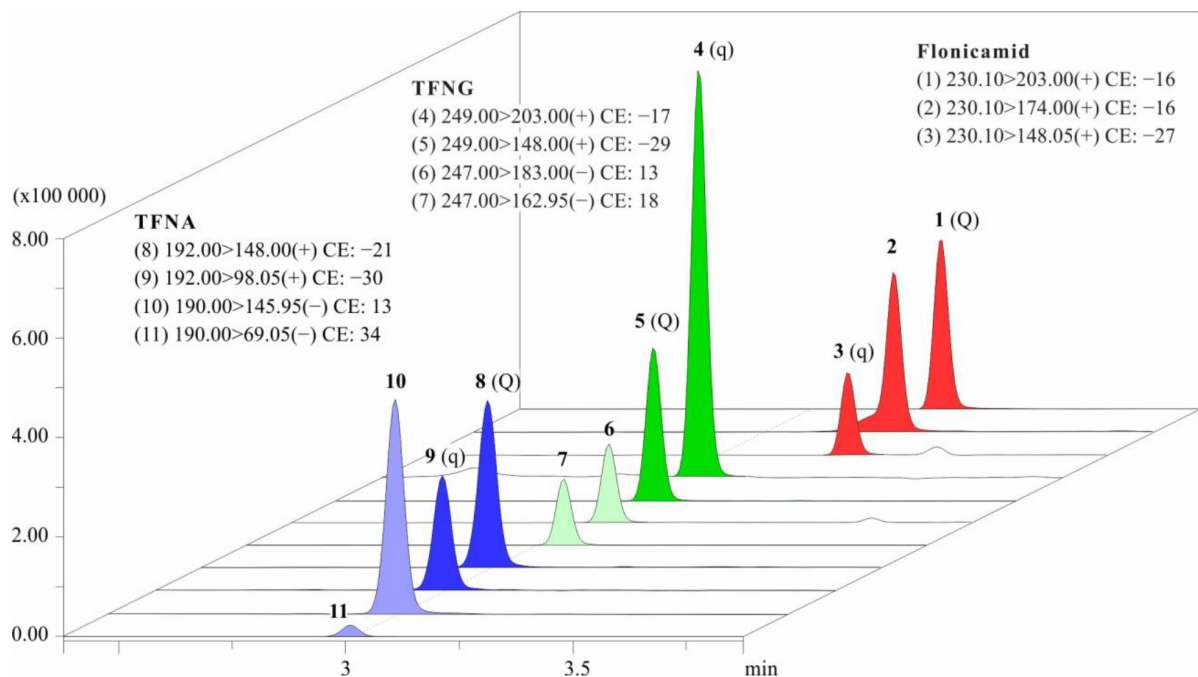


Рис. 3. Фрагменти хроматограм для різних MRM переходів флонікаміду, TFNA і TFNG

раніше MRM-переходів (рис. 3). А саме для таких MRM-переходів:

флонікаміду – (ESI+) 230 > 203, 230 > 174, 230 > 148;

TFNG – (ESI+) 249 > 203, 249 > 148; (ESI-) 247 > 183, 247 > 163;

TFNA – (ESI+) 192 > 148, 192 > 98; (ESI-) 190 > 146, 190 > 69.

За результатами проведених досліджень для детектування кожної сполуки було вибрано два MRM-переходи за позитивної електроспрей-іонізації (ESI+): Q – для проведення кількісних розрахунків, q – для підтвердження (рис. 3).

Отже, умови аналізу на рідинному хроматографі з потрійним квадрупольним мас-спектрометричним детектором наведено в таблиці 3, умови реєстрування MRM-переходів досліджуваних діючих речовин пестицидів в аналізі РХ-МС/МС – у таблиці 4.

Саме за цих умов у подальшому аналізували градувальні розчини суміші досліджуваних речовин в екстрактах контрольних проб томатів, томатного соку (для побудови для кожної матриці градувальних залежностей площі хроматографічного піка флонікаміду, TFNA, TFNG від масової концентрації флонікаміду, TFNA, TFNG у градувальному розчині їх суміші) та екстракти модельних проб томатів, томатного соку для перевірки точності розробленої методики визначення.

Підготовку проб томатів, томатного соку, до яких попередньо було внесено (у відомій кількості) кожну з досліджуваних сполук (окремо), здійснювали на основі методології QuEChERS згідно з [7]. Пробопідготовка базується на вилученні флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG з проб томатів, томатного соку 1%-м розчином мурашиної кислоти в ацетонітрилі (з висолюванням за допомогою магнію сульфату безводного та натрію хлориду) та очищенні екстрактів методом дисперсійної твердофазової екстракції із застосуванням сорбенту С18 (з додаванням магнію сульфату безводного).

На основі досліджень проб із внесенням флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG в томати, томатний сік на рівнях 0,01 мг/кг та 0,02 мг/кг (для кожної сполуки) було встановлено, що розроблена методика забезпечує визначення кожної з аналізованих сполук і в одній, і в другій матриці з необхідною правильністю (відсоток вилучення внесених речовин перебуває в діапазоні від 70 до 120 %), збіжністю ( $\leq 20$  %), внутрішньолабораторною відтворюваністю ( $\leq 20$  %) та розширеною невизначеністю ( $\leq 50$  %) [8]. Типові хроматограми, які були отримані під час валідації зазначеної методики, наведені на рис. 4.

Оптимальні умови пробопідготовки, хроматографічного розділення та мас-спектрометричного детектування покладені в основу методичних вказівок з визначення

Таблиця 3 – Параметри інструментального аналізу флонікамід, TFNA та TFNG

Умови хроматографування		
<i>Рідинний хроматограф</i> Shimadzu Nexera X2 <i>Хроматографічна колонка</i> Kinetex® 2.6 µm C18 100 Å 100 × 2.1 mm <i>Рухома фаза</i> Елюент А – 0,1%-й водний розчин мурашиної кислоти Елюент В – 0,1%-й розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі <i>Градiєнт</i>		
Час, хв	Склад рухомої фази, % за об'ємом	
	Елюент А	Елюент В
0,01	95	5
1,00	95	5
4,00	25	75
4,50	10	90
7,50	95	5
8,00	95	5
Об'ємна витрата рухомої фази	0,3 мл/хв	
Температура термостата колонки	40 °С	
Об'єм, що хроматографується	4 мкл	
Інжекування	Ко-інжекція – сумісне введення 4 мкл проби з 40 мкл 0,1%-го водного розчину мурашиної кислоти	
Умови мас-спектрометричного детектування		
<i>Детектор</i> Shimadzu LCMS-8050 (потрійний квадруполь) <i>Режим іонізації</i> Електроспрей-іонізація в позитивному режимі (ESI+)		
Напруга інтерфейсу	4 кВ	
Температура інтерфейсу	350 °С	
Температура лінії десольватації	150 °С	
Температура блоку нагрівачів	300 °С	
Об'ємна витрата газу, мл/хв:		
розпилюючого газу (азот)	3 мл/хв	
підігрівачуючого газу (повітря)	10 мл/хв	
висушуючого газу (азот)	10 мл/хв	
CID газ (аргон)	270 кПа	

Таблиця 4 – Умови реєстрування множинних реакцій досліджуваних сполук в аналізі вискоєфективної рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням за позитивної електроспрей-іонізації

Назва діючої речовини	Прекурсор-іон, m/z	Продукт-іон <sup>1)</sup> , m/z	Потенціал Q1 pre bias, В	Енергія іонізації <sup>2)</sup> , В	Потенціал Q3 pre bias, В	Час MRM-переходу <sup>3)</sup> , мс	Час утримування, хв
Флонікамід	230,10	203,00	-17	-16	-10	50	3,29–3,39
		148,05	-17	-27	-26	10	
TFNA	192,00	148,00	-14	-21	-15	50	2,90–3,07
		98,05	-10	-30	-10	10	
TFNG	249,00	148,00	-12	-29	-15	50	2,98–3,11
		203,00	-12	-17	-22	10	

Примітки: <sup>1)</sup> – першим указано продукт-іон для кількісних розрахунків (Q), другим – для підтвердження (q); <sup>2)</sup> – Collision energy (CE); <sup>3)</sup> – Dwell time.

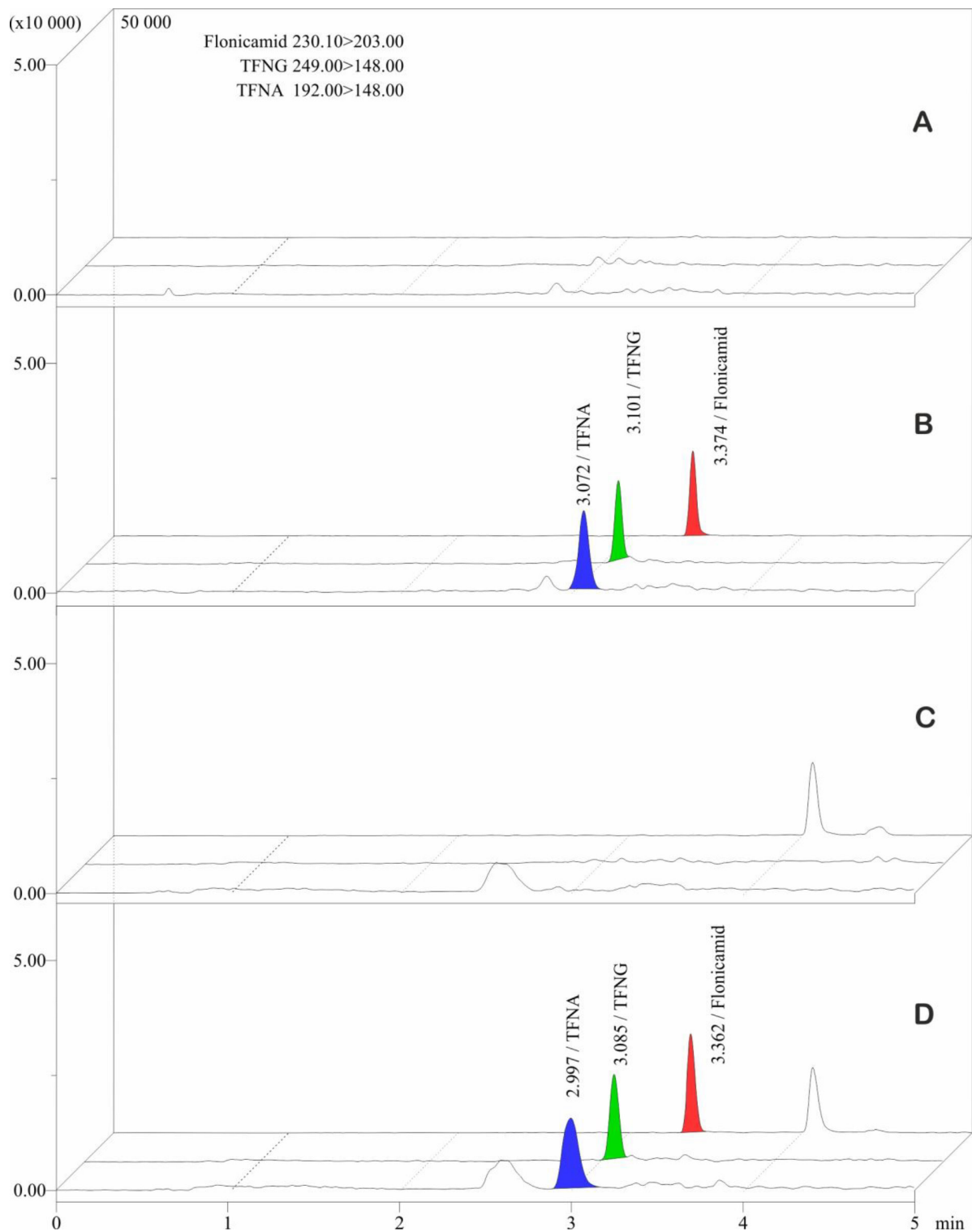


Рис. 4. Хроматограми екстрактів проб томатів, томатного соку, які отримані під час аналізу за умов, що наведені в табл. 3, 4: А – томати – контрольна проба; В – томати – модельна проба з внесенням флонікамід, TFNA і TFNG по 0,01 мг/кг; С – томатний сік – контрольна проба; D – томатний сік – модельна проба з внесенням флонікамід, TFNA і TFNG по 0,01 мг/кг

флонікамід (як суми флонікамід та його метаболітів TFNA і TFNG в перерахунку на флонікамід) в поматах і томатному соку з межею кількісного визначення для кожної

матриці 0,03 мг/кг. Межа кількісного визначення флонікамід та його метаболітів TFNA і TFNG в поматах, томатному соку становить (для кожної сполуки) 0,01 мг/кг.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблена методика визначення флонікаміду в томатах і томатному соку методом рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням з пробопідготовкою за методологією QuEChERS передбачає визначення вмісту не лише флонікаміду, а і його метаболітів TFNA і TFNG.

2. Методика визначення флонікаміду (як суми флонікаміду та його метаболітів TFNA і TFNG в перерахунку на флонікамід) в томатах і томатному соку з межею кількісного визначення 0,03 мг/кг (у кожній матриці) забезпечує контроль встановлених медико-санітарних нормативів відповідно до міжнародних вимог і норм.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державний реєстр пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. URL: <https://mepr.gov.ua/upravlinnya-vidhodamy/derzhavnyj-reyestr-pestytsydiv-i-agrohimiaktiv-dozvolenyh-dovykorystannya-v-ukrayini/>.
2. The PPDB A to Z List of Pesticide Active Ingredients. PPDB: Pesticide Properties DataBase University of Hertfordshire. URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>.
3. The Pesticide Manual [A World Compendium] / Nineteenth Edition. Editor J.A. Turner. BCPC, 2021. 1407 p.
4. Masayuki Morita, Tsuyoshi Ueda, Tetsuo Yoneda, Tohru Koyanagi, Takahiro Haga. Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding. *Pest Management Science*. 2007. Volume 63, Issue 10. P. 969–973. URL: <https://doi.org/10.1002/ps.1423>.

5. Insecticide Resistance Action Committee – Mode of Action Classification Scheme Version 11.2, August 2024. URL: <https://irac-online.org/documents/moa-classification/>
6. European Commission – EU Pesticides Database – MRLs. URL: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>
7. ДСТУ EN 15662:2023 Продукти харчування рослинного походження. Мультиметод визначення залишків пестицидів із використанням ГХ- та РХ-аналізу на основі екстракції/розподілу ацетонітрилу та очищення дисперсійною ТФЕ. Модульний QuEChERS-метод (EN 15662:2018, IDT).
8. Про визначення референс-методик, що використовуються для контролю державних медико-санітарних нормативів (параметрів безпечності) під час здійснення державного нагляду (контролю) : наказ МОЗ України від 10.08.2023 № 1442.

#### REFERENCES

1. Derzhavnyi reiestr pestytsydiv i ahrokhimiaktiv, dozvolenykh do vykorystannia v Ukraini [State register of pesticides and agrochemicals approved for use in Ukraine]. Retrieved from: <https://mepr.gov.ua/upravlinnya-vidhodamy/derzhavnyj-reyestr-pestytsydiv-i-agrohimiaktiv-dozvolenyh-dovykorystannya-v-ukrayini/> [in Ukrainian].
2. The PPDB A to Z List of Pesticide Active Ingredients: PPDB: Pesticide Properties University DataBase of Hertfordshire. Retrieved from: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>
3. The Pesticide Manual [A World Compendium] (2021). Nineteenth Edition. Editor J. A. Turner. BCPC.
4. Masayuki, Morita, Tsuyoshi, Ueda, Tetsuo, Yoneda, Tohru, Koyanagi, Takahiro, Haga. (2007). Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding. *Pest Management Science*, 63 (10), 969–973. Retrieved from: <https://doi.org/10.1002/ps.1423>
5. Insecticide Resistance Action Committee – Mode of Action Classification Scheme Version 11.2, August

2024. Retrieved from: <https://irac-online.org/documents/moa-classification/>
6. European Commission – EU Pesticides Database – MRLs. Retrieved from: <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/mrls>
7. DSTU EN 15662:2023 Produkty kharchuvannia rosllynnoho pokhodzhennia [Food products of plant origin] (2023). Multymetod vyznachennia zalyshkiv pestytsydiv iz vykorystanniam HKh- ta RKh-analizu na osnovi ekstraktsii/rozpodilu atsetonitrylu ta ochyshchennia dyspersiinoiu TFE. Modulnyi QuEChERS-metod (EN 15662:2018, IDT) [in Ukrainian].
8. Ministry of Health of Ukraine (2023). Pro vyznachennia referens-metodyk, shcho vykorystovuiutsia dlia kontroliu derzhavnykh medyko-sanitarnykh normatyviv [On the definition of reference methods used to control state medical and sanitary standards (safety parameters) during state supervision (control)]. August 10, 2023 Order No. 1442 Ministry of Health of Ukraine [in Ukrainian].

Адреса для листування: [lab\\_chrom@ukr.net](mailto:lab_chrom@ukr.net)

## DETERMINATION OF FLONICAMID IN TOMATOES AND TOMATO JUICE BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRY DETECTION

### Summary

**Introduction.** Flonicamid is a new systemic insecticide with selective action from the class of pyridinecarboxamides, the control of residual amounts of which, according to the current requirements of the European Commission, should be carried out taking into account its two metabolites.

**The aim of the study** is development of a method for the determination of flonicamid (sum of flonicamid and its metabolites TFNA and TFNG expressed as flonicamid) for the control of established medical and sanitary standards in tomatoes and tomato juice.

**Research Methods.** Chromatographic analysis was performed on a Shimadzu Nexera X2 liquid chromatograph with a Shimadzu LCMS-8050 three-quadrupole mass spectrometric detector using chromatographic steel columns Raptor™ Biphenyl 2.7 μm 100 × 2.1 mm and Kinetex® 2.6 μm C18 100 Å 100 × 2.1 mm. Tomato and tomato juice samples were prepared based on the QuEChERS methodology.

**Results and Discussion.** The results obtained using different mobile phases, elution options and sample introduction modes on the studied columns demonstrated the superiority of the Kinetex® 2.6 μm C18 100 Å 100 × 2.1 mm column for the analysis of flonicamid and its metabolites TFNA and TFNG under mobile phase gradient elution (eluent A – 0.1 % aqueous solution of formic acid; eluent B – 0.1 % solution of formic acid in acetonitrile) and co-injection mode.

Selected MRM transitions: flonicamid – (ESI+) 230 > 203, 230 > 148; TFNG – (ESI+) 249 > 203, 249 > 148; TFNA – (ESI+) 192 > 148, 192 > 98.

The optimal conditions of chromatography and mass spectrometric detection made it possible to determine flonicamid and its metabolites TFNA and TFNG in samples of tomatoes and tomato juice prepared according to the QuEChERS methodology with a limit of quantification (for each compound) of 0.01 mg/kg.

**Conclusions.** The method for determining flonicamid (sum of flonicamid, TFNA and TFNG expressed as flonicamid) in tomatoes and tomato juice with a limit of quantification of 0.03 mg/kg (in each matrix) ensures control of established medical and sanitary regulations standards in accordance with international requirements and norms.

KEY WORDS: pesticides; metabolites; limit of quantification; QuEChERS methodology; analytical methods; medical and sanitary standards.

Стаття надійшла до редакції 15.09.2025  
Стаття прийнята 30.09.2025  
Статтю опубліковано 24.10.2025



М. С. Гнатюк, О. Б. Слабий, Б. І. Довгий, Л. В. Татарчук  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## СТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА М'ЯЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СЕЧОВОГО МІХУРА ТА ЗМІНИ ЇЇ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ В УМОВАХ ПІСЛЯРЕЗЕКЦІЙНОЇ ПОРТАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

**Вступ.** Особливості енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура за порушень гемодинаміки в системі ворітної печінкової вени досліджені недостатньо.

**Мета роботи** – вивчити особливості енергетичного забезпечення м'язової оболонки сечового міхура в умовах пострезекційної портальної гіпертензії.

**Методи та матеріали.** Морфологічними й біохімічними методами досліджена м'язова оболонка сечового міхура трьох груп свиней в'єтнамської породи: 1-ша група – 5 контрольних тварин, 2-га – 11 свиней із пострезекційною портальною гіпертензією, 3-тя – 6 тварин із поєднанням пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю. Пострезекційну портальну гіпертензію моделювали резекцією лівої та правої бічних часток печінки. У м'язовій оболонці сечового міхура визначали вміст АТФ, АДФ, АМФ та відношення АТФ / АДФ. Морфометрично на мікропрепаратах м'язової оболонки визначали її товщину, відносний об'єм міоцитів, стромы, стромально-міоцитарні відношення, ядерно-цитоплазматичні відношення в міоцитах, обсяг пошкоджених міоцитів. Проводився кореляційний аналіз між біохімічними та морфометричними показниками. Цифрові величини оброблялися статистично.

**Результати й обговорення.** Встановлено, що резекція лівої та правої бокових часток печінки у свиней в'єтнамської породи призводила до виникнення пострезекційної портальної гіпертензії. При цьому в 35,3 % розвинулася поліорганна недостатність. В умовах змодельованої патології зменшувалася товщина м'язової оболонки сечового міхура, зростав відносний об'єм стромы, стромально-міоцитарні відношення, обсяг пошкоджених міоцитів, зменшувалися концентрації АТФ, АДФ, АМФ, порушувалися відношення АТФ / АДФ та ядерно-цитоплазматичні відношення в міоцитах. Виявлені зміни домінували в разі поєднанні пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю. Ступінь погіршення енергетичного забезпечення м'язової оболонки сечового міхура корелював із вираженістю морфологічних змін.

**Висновки.** Видалення правої та лівої бокових часток печінки призводить до пострезекційної портальної гіпертензії, істотного погіршення енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура, пошкодження її структурних компонентів. Ступінь зниження енергетичного забезпечення м'язової оболонки сечового міхура переважав у разі поєднання пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю й корелював із вираженістю структурних змін.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сечовий міхур; м'язова оболонка; енергетичне забезпечення; резекція печінки.

ВСТУП. Портальна гіпертензія найчастіше зустрічається за наявності цирозу печінки, часто ускладнюється кровотечами з варикозно розширених вен стравоходу, шлунка, прямої кишки, спленомегалією, асцитом, енцефалопатією, гепатаргією і на сьогодні є важливою соціальною та медичною проблемою [1; 2]. Видалення великих обсягів печінки, що здійснюється в сучасних хірургічних клініках за доброякісних та злоякісних пухлин, метастазів, травм печінки, внутрішньопечінкового холангіолітіазу, альвеолярного ехінококозу, трансплантацій печінки, також ускладнюються пострезекційною портальною гіпертензією [3; 4]. Портальна гіпертензія призводить до виражених

змін кровообігу в системі ворітної печінкової вени, який може впливати на кровоплин у великому та малому колах кровообігу та змінювати структуру їх органів, включно із сечовим міхуром [5]. М'язова оболонка сечового міхура, яку називають детрузором, складається з пучків гладких міоцитів, які формують зовнішній поздовжній шар, середній – коловий, внутрішній – поздовжній, які переплітаються між собою і формують єдиний м'яз. М'язова оболонка сечового міхура є складовим структурно-функціональним компонентом цього органа, що відіграє важливу роль не тільки у його нормальній функціональній діяльності, але й за розвитку патології [5]. Морфологічні зміни у стінці сечового міхура впливають на енергозабезпечення його м'язової оболонки, якому

належить важлива роль у повноцінному функціонуванні вказаного органа.

З огляду на наведене метою дослідження стало вивчення особливостей енергетичного забезпечення м'язової оболонки сечового міхура в умовах пострезекційної портальної гіпертензії.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Морфологічними і біохімічними методами досліджено сечовий міхур 22 лабораторних статевозрілих свиней-самців в'єтнамської породи, які були розділені на 3 групи: 1-ша група – 5 контрольних тварин, 2-га – 11 свиней із пострезекційною портальною гіпертензією, 3-тя – 6 тварин із поєднанням пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю. Пострезекційну портальну гіпертензію моделювали резекцією лівої та правої бічних часток печінки [6]. За поліорганної недостатності діагностували асцит, гідроторакс, печінкову, ниркову, ентеральну, серцеву недостатності, периферичні набряки. Через 30 днів від початку дослідження виконували евтаназію свиней кровопусканням в умовах тіопентал-натрієвого наркозу.

Зі стінки сечового міхура виготовляли гістологічні препарати, які забарвлювали гематоксиліном та еозином, за ван-Гізон, Маллорі, Вейгертом, Массоном, толуїдиновим синім [7]. Морфометрично визначали товщину м'язової оболонки (ТМО), відносний об'єм міоцитів (ВОМ), строми (ВОС), стромально-міоцитарні (СМВ), ядерно-цитоплазматичні (ЯЦВ) відношення в міоцитах, обсяг пошкоджених міоцитів (ОПМ). Морфометрію м'язової оболонки сечового міхура проводили, використовуючи світловий мікроскоп Olimpus VX-23 із цифровою відеокамерою та пакетом прикладних програм «Відео-тест 5.0» та «Відео-розмір 5.0».

У м'язовій оболонці сечового міхура визначали вміст АТФ, АДФ, АМФ та відношення АТФ / АДФ за W. E. Sohn і С. E. Carter [8; 9].

З'ясовувалися кореляційні зв'язки між показниками енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура та його досліджуваними морфометричними параметрами. Вказані взаємозв'язки оцінювали, визначаючи коефіцієнт кореляції ( $r$ ) та вчислюючи їх силу: ( $r = 0,9 \div 0,7$ ) – сильний, ( $r = 0,7 \div 0,5$ ) – значний, ( $r = 0,5 \div 0,3$ ) – помірний, ( $r = < 0,3$ ) – слабкий зв'язок [9].

Отримані цифрові дані обробляли статистично. Різницю між порівнювальними морфометричними параметрами визначали за критерієм Стьюдента [10].

Досліди й евтаназію свиней в'єтнамської породи виконували з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в дослідних та інших наукових цілях» [11; 12].

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** Встановлено, що резекція лівої та правої бокових часток печінки у свиней в'єтнамської породи в 11 тварин (64,7 %) ускладнювалася розвитком пострезекційної портальної гіпертензії, яка характеризувалася розширенням, повнокров'ям печінкової ворітної вени, повнокров'ям і розширенням брижових вен і видимого венозного русла тонкої та товстої кишок, слизові оболонки тонкої, товстої кишок повнокровні, набряклі, з поодинокими осередками точкових крововиливів, появлялися асцит та спленомегалія. У 6 свиней (35,3 %) із пострезекційною портальною гіпертензією розвинулася поліорганна недостатність, за якої діагностувалися ентеральна, печінкова, ниркова та серцева недостатності.

Концентрації АТФ, АДФ, АМФ у м'язовій оболонці сечового міхура свиней, отримані за результатами проведених досліджень, показані в таблиці 1. В експериментальних тварин із післярезекційною портальною гіпертензією у м'язовій оболонці встановлено зниження вмісту речовин, які об'єктивно відображали стан її енергозабезпечення. Так, концентрація АТФ при цьому виявлялася статистично вірогідною ( $p < 0,001$ ) на 35,1 %, АДФ – на 27,8 %, АМФ – на 24,1 % ( $p < 0,001$ ). У цих експериментальних умовах виражено змінилося відношення АТФ / АДФ. У контрольних спостереженнях цей показник дорівнював ( $1,70 \pm 0,01$ ), у досліджуваній групі спостережень – ( $1,53 \pm 0,01$ ). Між наведеними показниками встановлена виражена статистично достовірна ( $p < 0,001$ ) різниця і остання кількісна величина виявилася меншою за попередню на 10,0 %.

У третій групі тварин, де встановлено пострезекційну портальну гіпертензію у поєднанні з поліорганною недостатністю, енергетичне забезпечення м'язової оболонки сечового міхура виражено погіршувалося порівняно з другою групою. При цьому вміст АТФ із високим ступенем статистично вірогідної різниці ( $p < 0,001$ ) зменшився на 50,5 % порівняно з першою групою, АДФ – на

Таблиця 1 – Вміст аденозинтрифосфату, аденозидифосфату й аденозинмонофосфату в м'язовій оболонці сечового міхура експериментальних тварин ( $M \pm m$ )

Показник, мкМ/г	Група тварин		
	перша	друга	третя
АТФ	0,792 ± 0,006	0,514 ± 0,004***	0,392 ± 0,004***
АДФ	0,464 ± 0,003	0,335 ± 0,002***	0,304 ± 0,002***
АМФ	0,390 ± 0,003	0,296 ± 0,002***	0,268 ± 0,002***
АТФ / АДФ	1,70 ± 0,01	1,53 ± 0,01***	1,29 ± 0,01***

Примітка: \*\*\* –  $p < 0,001$  стосовно першої групи.

34,5 %, АМФ – на 31,3 % ( $p < 0,001$ ). Відношення АТФ / АДФ у змодельованих умовах експерименту виявилось зниженим на 24,1 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем.

Проведений аналіз отриманих результатів стверджує, що в умовах пострезекційної портальної гіпертензії суттєво погіршується енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура. Виражені зміни відношень АТФ / АДФ при цьому свідчать, що концентрації АТФ, АДФ, АМФ знижуються диспропорційно та розбалансовано. Встановлено також, що поєднання пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю призвело до найбільш вираженого погіршення та розбалансування енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура. Варто вказати, що деякі дослідники коефіцієнт АТФ / АДФ вважають інформаційним показником енергетичного стану клітини, а виражене порушення енергетичного забезпечення м'язової оболонки може ускладнюватися дисфункцією досліджуваного органа [9].

Отримані за результатами проведеного дослідження морфометричні параметри м'язової оболонки сечового міхура експериментальних тварин показані в таблиці 2. Оцінкою даних представленої таблиці встановлено, що пострезекційна портальна гіпертензія і розвиток поліорганної недостатності призводили до вираженої структурної перебудови м'язової оболонки сечового міхура. Встановлено, що в умовах пострезекційної портальної гіпертензії товщина м'язової оболонки з вираженою достовірною різницею ( $p < 0,001$ ) зменшилася на 8,1 %, за розвитку поліорганної недостатності – на 20,8 % ( $p < 0,001$ ). Відносні обсяги м'язових клітин у змодельованих експериментальних умовах статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшувалися, а стромі зростали. Особливо виражено відображали збільшення стромальних структур у м'язовій оболонці сечового міхура стромально-міоцитарні відношення. В умовах пострезекційної портальної гіпертензії стромально-міоцитарні відношення

у м'язовій оболонці сечового міхура зі статистично вірогідною різницею ( $p < 0,001$ ) збільшилися на 22,0 % порівняно з контролем, за поєднання пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю – на 32,2 % ( $p < 0,001$ ). Динаміка змін досліджуваного морфометричного параметра свідчила про зростання стромальних структур у м'язовій оболонці сечового міхура в умовах змодельованого експерименту. Ядерно-цитоплазматичні відношення в міоцитах м'язової оболонки за пострезекційної портальної гіпертензії виявилися статистично достовірно ( $p < 0,001$ ) збільшеними на 10,6 % порівняно з аналогічним контрольним морфометричним параметром. В умовах розвитку поліорганної недостатності ядерно-цитоплазматичні відношення в міоцитах м'язової оболонки сечового міхура виявилися зменшеними на 9,8 % зі статистично вірогідною різницею ( $p < 0,001$ ) стосовно аналогічного морфометричного параметра першої групи тварин. Відомо, що ядерно-цитоплазматичні відношення дають змогу об'єктивно оцінити метаболізм клітин, їх структурно-функціональний стан, вираженість адаптаційно-компенсаторних процесів та ознаки їх зриву. Встановлені зміни ядерно-цитоплазматичних відношень в умовах післяопераційної портальної гіпертензії свідчать про активацію метаболізму, а зменшення їх за розвитку поліорганної недостатності – про виснаження адаптаційних резервів ядерних структур [6]. Зрив структурного клітинного гомеостазу також підтверджувався обсягом пошкоджених міоцитів, який у третій групі спостережень виявився збільшеним у 16,8 разу ( $p < 0,001$ ) стосовно аналогічного морфометричного параметра контрольної групи.

Проведенням кореляційного аналізу виявлені взаємозв'язки різної сили між досліджуваними біохімічними та морфометричними показниками м'язової оболонки сечового міхура. Так, між концентрацією АТФ у м'язовій оболонці сечового міхура й обсягом пошкоджених міоцитів виявлено сильний негативний зв'язок ( $r = -0,77 \pm 0,03$ ).

Таблиця 2 – Кількісні морфологічні показники м'язової оболонки сечового міхура експериментальних тварин ( $M \pm m$ )

Параметр	Група тварин		
	перша	друга	третя
ТМО, мкм	1023,5 ± 7,2	940,4 ± 6,6***	810,7 ± 5,7***
ВОМ, %	89,4 ± 0,6	87,4 ± 0,6*	86,5 ± 0,6*
ВОС, %	10,6 ± 0,07	12,6 ± 0,08**	13,5 ± 0,09***
СМВ	0,118 ± 0,001	0,144 ± 0,001***	0,156 ± 0,001***
ЯЦВ	0,122 ± 0,001	0,135 ± 0,001***	0,110 ± 0,001***
ОПМ, %	2,20 ± 0,04	30,80 ± 0,21***	37,10 ± 0,24***

Примітка: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  стосовно першої групи.

Між рівнями АДФ, АМФ та вказаним морфометричним параметром встановлено значні аналогічні взаємозв'язки ( $r = -0,62 \pm 0,02$ ). Між відношенням АТФ / АДФ і стромально-міоцитарними відношенням у м'язовій оболонці сечового міхура в змодельованому досліді існував сильний негативний зв'язок ( $r = -0,81 \pm 0,03$ ). Наведене вище свідчить, що енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура в умовах змодельованої патології залежить від особливостей структурної перебудови та її морфологічних змін.

Гістологічно у м'язовій оболонці сечового міхура в умовах досліджуваного експерименту відмічалися порушення лімфо- та кровообігу.

Спостерігалось розширення та повнокров'я переважно венозних судин, стромальний і периваскулярний набряки, осередки

дистрофії, некробіозу міоцитів, ендотеліоцитів судин, стромальних структур, вогнища клітинної інфільтрації та склерозу. Виявлені морфологічні зміни у слизовій оболонці сечового міхура домінували за поєднання пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю.

**ВИСНОВКИ.** Видалення правої та лівої бокових часток печінки призводить до пострезекційної портальної гіпертензії, істотного погіршення енергозабезпечення м'язової оболонки сечового міхура, пошкодження її структурних компонентів. Ступінь зниження енергетичного забезпечення м'язової оболонки сечового міхура переважав у разі поєднання пострезекційної портальної гіпертензії з поліорганною недостатністю й корелював з вираженістю структурних змін.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дзигал О. Ф. Формування полісиндромної недостатності у хворих на цироз печінки з портальною гіпертензією. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 2. С. 88–92.
2. McConnell M., Iwakiri Y. Biology of portal hypertension. *Hepatol. Int.* 2018. No. 12. P. 11–23.
3. Зацаринний Р. А., Підпригора О. О. Концентрація лідокаїну в крові при внутрішньовенному та епідуральному введенні при обширних резекціях печінки. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2022. № 3. С. 20–26. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533/2022/3/13259>
4. Волченко І. В. Особливості виконання обширних резекцій печінки з урахуванням профілактики післяопераційних ускладнень. І. В. Волченко, В. М. Ліхман, Д. І. Скорий, А. М. Шевченко. *Харківська хірургічна школа*. 2016. № 3 (78). С. 35–39.
5. Shenoy-Dhangie A. S, Pires Franko I., Ray L. J., et al. Imaging of urinary bladder and ureteral endometriosis with Emphasis on diagnosis and technique. *Acad. Radiol.* 2024. Vol. 31 (9). P. 3659–3671. DOI: [10.1016/j.acra.2023.10.053](https://doi.org/10.1016/j.acra.2023.10.053)
6. Гнатюк М. С. Морфометричні аспекти вивчення структур товстої кишки при резекції різних об'ємів

печінки. М. С. Гнатюк, О. М. Процайло, Л. В. Татарчук, Н. Я. Монастирська. *Морфологія*. 2018. № 1 (16). С. 58–61. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.1.58-61>

7. Варенюк І. М., Дзержинський М. Е. Методи цито-гістологічної діагностики : навчальний посібник. Київ : Інтерсервіс, 2019. 256 с.

8. Cohn W. E., Carter C. E. The separation of adenosine polyphosphates by ion exchange and paper chromatography. *Amer. Chem. Soc.* 1950. Vol. 2. P. 4273–4275.

9. Татарчук Л. В., Шульгай А. Г., Гнатюк М. С. Особливості енергозабезпечення м'язової оболонки клубової кишки при резекціях різних об'ємів печінки. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 20 (4). С. 11–16. DOI: [10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9782](https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9782)

10. Petrie A., Sabin C. *Medical statistics at a Glance*. 4th ed. New York : Wiley, 2019. 208 p.

11. Council of Europe. *European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Strasbourg : Council of Europe, 1986. 52 p.

12. Запорожан В. М., Ареф М. Л. *Біоетика і біобезпека*. Київ : Здоров'я. 2013. 456 с.

## REFERENCES

1. Dzyhal, O. F. (2017). Formuvannya polisindromnoi nedostatnosti u khvorykh na tsyroz pechinky z portalnoiu hipertenziieiu [Formation of polysyndromic insufficiency in patients with liver cirrhosis and portal hypertension]. *Bulletin of scientific research*, 2, 88–92 [in Ukrainian].
2. McConnell, M., Iwakiri, Y. (2018). Biology of portal hypertension. *Hepatology*, 12, 11–23.
3. Zatsarynniy, R. A., Pidopryhora, O. O. (2022). Kонтратриа lidokainu v krovі pry vnutrishnovennomu ta epiduralnomu vvedenni pry obshyrynykh rezektsiakh pechinky [Lidocaine blood concentration after intravenous and epidural administration in extensive liver resection]. *Hospital Surgery. Journal named after L. Ya. Kovalchuk*, 3, 20–26. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533/2022/3/13259> [in Ukrainian].
4. Volchenko, I. V., Lykhan, V. M., Skoryy, D. I., Shevchenko, A. M. (2016). Osoblyvosti vykonannya obshchynykh rezektsii pechinky z urakhuvanniam profilaktyky pisliaoperatsiynykh uskladnen [Features of performing extensive resections of the liver, taking into account the prevention of postoperative complications]. *Kharkiv Surgical School*, 3 (78), 35–39 [in Ukrainian].
5. Shenoy-Dhangie, A. S., Franko Pires, I., Ray, L. J. (2024). Imaging of urinary bladder and ureteral endometriosis with Emphasis on diagnosis and technique. *Acad. Radiol.*, 31 (9), 3659–3671. DOI: 10.1016/j.acra.2023.10.053
6. Hnatyuk, M. S., Protsaylo, O. M., Tatarchuk, L. V., Monastyrska, N. Ya. (2018). Morfometrychni aspekty vyvchennya struktur товстої кишкы pry rezektsiyi riznykh ob'yemiv pechinky [Morphometric aspects of studying colon structures during resection of different liver volumes]. *Morphologia*, 1 (16), 58–61. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.1.58-61> [in Ukrainian].
7. Varenjuk, I. M., Dzerzhynsky, M. E. (2019). Metody tsyto-histolohichnoi diahnozyky: navchalnyi posibnyk [Methods of cyto-histological diagnosis: a textbook]. Kyiv: Interservis [in Ukrainian].
8. Cohn, W. E., Carter, C. E. (1950). The separation of adenosine polyphosphates by ion exchange and paper chromatography. *Amer. Chem. Soc.*, 2, 4273–4275.
9. Tatarchuk, L. V., Shulgai, A. H., Hnatjuk, M. S. (2018). Osoblyvosti enerhozabezpechennya m'yazovoyi obolonky klubovoyi kyshky pry rezektsiyi riznykh ob'yemiv pechinky [Features of energy supply of the muscular coat of the ileum during resection of different volumes of the liver]. *Medical and clinical chemistry*, 20 (4), 11–16. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2018.v0.i4.9782 [in Ukrainian].
10. Petrie, A., Sabin, C. (2019). *Medical statistics at a Glance*. 4th ed. New York: Wiley.
11. Council of Europe (1986). *European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Strasbourg. 52 p.
12. Zaporozhan, V. M., Aryev, M. L. (2013). Bioetyka i biobezpeka [Bioethics and Biosafety]. Kyiv: Zdrovya [in Ukrainian].

Адреса для листування: [hnatjuk@tdmu.edu.ua](mailto:hnatjuk@tdmu.edu.ua)

M. S. Hnatjuk, O. B. Slabyy, B. I. Dovgyy, L. V. Tatarchuk  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## STRUCTURAL RECONSTRUCTION OF THE MUSCLE OF THE URINARY BLADDER AND CHANGES IN ITS ENERGY SUPPLYING IN THE CONDITIONS AT POSTRESECTION PORTAL HYPERTENSION

### Summary

**Introduction.** The features of energy supply to the muscle of the urinary bladder in hemodynamic disorders in the hepatic portal vein system have not been sufficiently studied.

**The aim of the study** – to study the features of the energy supply of the muscle of the urinary bladder in conditions of postresection portal hypertension.

**Research Methods.** Morphological and biochemical methods were used to study the muscle of the urinary bladder of three groups of Vietnamese pigs: group 1 – 5 control animals, group 2 – 11 pigs with postresection portal hypertension, group 3 – 6 animals with a combination of postresection portal hypertension with multiple organ failure. Postresection portal hypertension was modeled by resection of the left and right lateral lobes of the liver. The content of ATP, ADP, AMP and the ATP/ADP ratio were determined in the muscle of the urinary bladder. Morphometrically, on micropreparations of the muscle, its thickness, relative volume of myocytes, stroma, stromal-myocyte ratios, nuclear-cytoplasmic ratios in myocytes, and the volume of damaged myocytes were determined. Correlation analysis was performed between biochemical and morphometric parameters. Quantitative values were processed statistically.

**Results and Discussion.** It was found that resection of the left and right lateral lobes of the liver in Vietnamese pigs led to the occurrence of postresection portal hypertension. In this case, 35.3 % developed multiple organ failure. Under the conditions of simulated pathology, the thickness of the muscle of the urinary bladder decreased, the relative volume of the stroma, stromal-myocyte ratios, the volume of damaged myocytes increased, and the concentrations of ATP decreased. ADP, AMP, the ATP/ADP ratio and nuclear-cytoplasmic ratios in myocytes were disturbed. The detected changes dominated when postresection portal hypertension was

combined with multiple organ failure. The degree of deterioration of the energy supply of the muscular membrane of the urinary bladder correlated with the severity of morphological changes.

**Conclusions.** Removal of the right and left lateral lobes of the liver leads to postresection portal hypertension, significant deterioration of the energy supply of the muscle of the bladder, damage to its structural components. The degree of reduction in the energy supply of the muscle of the urinary bladder prevailed in the combination of postresection portal hypertension with multiple organ failure and correlated with the severity of structural changes.

KEY WORDS: **urinary bladder; muscle; energy supply; liver resection.**

Стаття надійшла до редакції 06.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



Ю. С. Кравчук, М. М. Корда  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## ВПЛИВ ЗБАГАЧЕНОЇ МОЛЕКУЛЯРНИМ ВОДНЕМ ВОДИ НА ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

**Вступ.** Метаболічний синдром (МС) є поліфакторіальним станом, що включає ожиріння, інсулінорезистентність, артеріальну гіпертензію та дисліпідемію. Ключовою ланкою його патогенезу є оксидативний стрес, який призводить до пошкодження ліпідів, білків і ДНК. Останніми роками увагу привертає молекулярний водень як селективний антиоксидант із потенціалом зменшувати прояви оксидативного дисбалансу.

**Мета дослідження** – встановити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники оксидативного стресу в щурів з експериментально індукованим метаболічним синдромом.

**Методи дослідження.** Дослідження проведено на 90 білих самцях щурів лінії Wistar, розподілених на групи залежно від тривалості експерименту (6, 12 і 20 тижнів). МС моделювали шляхом утримання тварин на висококалорійному раціоні. Частина щурів отримували воду, збагачену молекулярним воднем (0,6 ppm). У сироватці крові визначали рівні 8-ізопростанів, протеїн-карбонілу та 8-гідроксидеооксигуанозину (8-OHdG) методом ELISA та спектрофотометрії. Статистичну обробку проводили за критерієм Стьюдента і ANOVA з  $p \leq 0,05$ .

**Результати й обговорення.** У тварин із МС зафіксовано суттєве зростання маркерів оксидативного стресу: рівень 8-ізопростанів перевищував контрольні значення майже у 2,7 раза, протеїн-карбонілу – у 2,3 раза, а 8-OHdG – удвічі (20-й тиждень експерименту). Вживання збагаченої воднем води достовірно знижувало ці показники: концентрація 8-ізопростанів зменшувалася на 30 %, протеїн-карбонілу – на 25 %, 8-OHdG – на 32 % порівняно з тваринами без корекції. Найбільш виразний ефект відзначено на середніх і пізніх етапах патології, що вказує на кумулятивну дію молекулярного водню. Разом із тим показники не досягали контрольних рівнів, що свідчить про неповне усунення оксидативних ушкоджень.

**Висновки.** МС супроводжується прогресивним накопиченням оксидативних ушкоджень ліпідів, білків і ДНК. Збагачена молекулярним воднем вода достовірно знижує маркери оксидативного стресу, найбільш ефективно за тривалого застосування. Антиоксидантна дія молекулярного водню має захисний ефект, що визначає його перспективність як додаткового засобу в комплексній терапії МС.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** метаболічний синдром; оксидативний стрес; 8-ізопростани; протеїн-карбоніл; 8-гідроксидеооксигуанозин, молекулярний водень.

ВСТУП. Метаболічний синдром (МС) є комплексним поліфакторіальним станом, що включає ожиріння, інсулінорезистентність, артеріальну гіпертензію та дисліпідемію. Він розглядається як одна з провідних медико-біологічних проблем сучасності, оскільки істотно підвищує ризик розвитку цукрового діабету 2-го типу, серцево-судинних захворювань і неалкогольної жирової хвороби печінки [1]. Поширеність метаболічного синдрому у світі зростає і досягає 20–25 % серед дорослого населення, що визначає потребу в пошуку ефективних методів профілактики та терапії [2].

Важливою патогенетичною ланкою МС є оксидативний стрес, що виникає внаслідок надмірної продукції активних форм кисню та зниження ефективності ендогенних

антиоксидантних систем [3]. Оксидативний дисбаланс сприяє хронічному запаленню, прогресуванню інсулінорезистентності, ендотеліальній дисфункції та атерогенезу. Отже, модулювання процесів вільнорадикального окиснення розглядається як перспективний напрям у лікуванні та профілактиці ускладнень МС.

Останнім часом усе більшу увагу привертає молекулярний водень ( $H_2$ ) як потенційний селективний антиоксидант [4]. Було показано, що  $H_2$  здатен вибірково нейтралізувати найбільш реактивні форми кисню, зокрема гідроксильні радикали та пероксинітрил. Крім того, молекулярний водень виявляє протизапальну й антиапоптотичну дію, що розширює спектр його можливих терапевтичних застосувань [5].

Однією з найбільш зручних і безпечних форм використання  $H_2$  є збагачена

молекулярним воднем питна вода. Низка експериментальних і клінічних досліджень свідчить, що регулярне вживання такої води може знижувати маркери оксидативного стресу, покращувати метаболічні параметри і чинити кардіо- та нейропротекторний ефект [6; 7]. Водночас роль молекулярного водню в корекції метаболічного синдрому вивчена недостатньо, а механізми його впливу на оксидативний гомеостаз у цьому патологічному стані залишаються предметом активних наукових пошуків.

З огляду на зростання поширеності метаболічного синдрому та ключову роль оксидативного стресу в його патогенезі дослідження можливостей молекулярного водню як нового терапевтичного агента набуває особливої актуальності. Експериментальні моделі на лабораторних тваринах, зокрема на щурах, є важливим інструментом для оцінки ефективності та безпечності цього підходу.

**МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ** – встановити вплив збагаченої молекулярним воднем води на показники оксидативного стресу в щурів з експериментально індукованим метаболічним синдромом.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Усі експерименти проведено відповідно до вимог Женевської конвенції *International Guiding Principles for Biochemical Research Involving Animals* (Geneva, 1990) та згідно із «Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики» (Київ, Україна, 2001).

Експеримент розпочинали на білих самцях щурів лінії Wistar віком 5 тижнів із масою тіла 110–120 г. У процесі роботи було використано 90 щурів. Усі щури утримувалися в приміщенні з контрольованими умовами мікроклімату (температура  $22 \pm 2$  °C, відносна вологість 60 %) і досліджувалися в однаковий час доби. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Щурів було поділено на три основні експериментальні групи залежно від тривалості перебування в експерименті: *I група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 6 тижнів, *II група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 12 тижнів, *III група* – тварини, які перебували в експерименті протягом 20 тижнів. Кожна основна група налічувала по 30 щурів. У середині групи тварини додатково розподілялися на три підгрупи (по 10 тварин у кожній): 1) контрольна підгрупа – тварини, які перебували

на стандартному раціоні віварію та споживали питну водопровідну воду; 2) тварини, які отримували висококалорійний раціон і споживали питну водопровідну воду; 3) тварини, які отримували висококалорійний раціон і споживали воду, збагачену молекулярним воднем.

Евтаназію тварин I групи під тіопенталовим наркозом здійснювали на 43-й день експерименту, II групи – на 85-й день, а III групи – на 141-й день від початку дослідження. Забір крові здійснювали шляхом пункції серця. Отриману кров відразу поміщали в пробірки без антикоагулянту та витримували за кімнатної температури до утворення згустку. Після цього проби центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Надосадову рідину (сироватку) відбирали та зберігали за температури  $-80$  °C до моменту аналізу.

Для моделювання метаболічного синдрому тварини 2-ї та 3-ї підгруп кожної групи мали необмежений доступ до висококалорійного гранульованого раціону Комбі ТМ («Віта ПФ», Україна) протягом всього експерименту. Загальна енергетична цінність раціону становила приблизно 3,9 ккал/г, з яких білки забезпечували 0,6 ккал/г (16 %), жири – 1,1 ккал/г (28 %), а вуглеводи – 2,2 ккал/г (56 %) від загальної енергетичної цінності.

Воду, збагачену молекулярним воднем, готували безпосередньо в поїлках щурів шляхом занурення у воду восьми магнієвих паличок (довжина – 5 см, діаметр – 14 мм). Через 15 хвилин після внесення паличок концентрація молекулярного водню в воді досягала 0,6 ppm. Поїлки встановлювали у клітках із тваринами й оновлювали кожні 2 дні. Контроль концентрації водню проводили за допомогою сертифікованого  $H_2$ -метра ENH-100 (Amtast, США).

*Визначення вмісту 8-ізопростанів (8-epi-PGF $2\alpha$ ) у сироватці крові.* Вміст 8-ізопростанів визначали методом конкурентного імуноферментного аналізу (ELISA) із використанням набору фірми Elabscience, США (Catalog No: E-EL-0041). Мікропланшет для ІФА був попередньо покритий 8-epi-PGF $2\alpha$ . Під час реакції 8-epi-PGF $2\alpha$  у зразках або стандарті конкурує з фіксованою кількістю 8-epi-PGF $2\alpha$  на твердофазному носії за сайти на антитілах, які є специфічними для 8-epi-PGF $2\alpha$ . Надлишок кон'югату та незв'язаний зразок або стандарт змивали з планшета, і до кожної лунки мікропланшета додавали авідин, кон'югований із пероксидазою хрому, та інкубували. Потім до кожної лунки

додавали розчин субстрату ТМВ. Реакцію фермент-субстрат зупиняли додаванням стоп-розчину, а зміну кольору вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі  $450 \pm 2$  нм. Концентрацію 8-epi-PGF $2\alpha$  у зразках визначали шляхом порівняння оптичної щільності зразків зі стандартною кривою. Для побудови калібрувальної кривої використовували п'ятипараметричну логістичну модель (5-parameter logistic curve, 5PL).

*Визначення вмісту протеїнових карбонільних груп у сироватці крові.* Визначення вмісту протеїнкарбонілу проводили з використанням набору Protein Carbonyl Colorimetric Assay Kit фірми Elabscience, США (Catalog No: E-BC-K117-S). Після окислення білків кількість карбонільних груп зростає. Вони вступають у реакцію з 2,4-динітрофенілгідразинном, унаслідок чого утворюється червоно-коричневий осад. Після розчинення осаду його абсорбцію вимірювали за довжини хвилі 370 нм.

Розрахунок вмісту карбонільних груп здійснювали за формулою:

Протеїнкарбоніл (nmol/mg prot)  
 $= ((A1 - A2) / (\epsilon \times d) + (Cpr \times V1 / V2) \times 10^9 \times f,$   
 де: A1 – оптична густина дослідного зразка, A2 – оптична густина контролю,  $\epsilon$  – молярний коефіцієнт екстинкції карбонільних груп (22 000 L/mol · cm),  $d$  – довжина оптичного шляху кювети (0,5 cm), V1 – загальний об'єм реакційної суміші (1,25 ml), V2 – об'єм зразка, внесеного у реакційну систему (0,1 ml), Cpr – концентрація білка у зразку (mg prot/L),  $10^9$  – коефіцієнт переведення (1 mol =  $10^9$  nmol),  $f$  – коефіцієнт розведення зразка перед аналізом.

*Визначення концентрації 8-гідроксидеоксигуанозину (8-OHdG) у сироватці крові.* Вміст 8-OHdG визначали методом конкурентного імуноферментного аналізу (ELISA) з використанням набору фірми FineTest Biotech Inc., США (Catalog No: EU2548). Мікротитровальний планшет був попередньо покритий 8-OHdG. Під час реакції 8-OHdG у зразку або стандарті конкурує з фіксованою кількістю 8-OHdG на твердофазному носії за сайти на біотинільованих антитілах, специфічних до 8-OHdG. Надлишок кон'югату та незв'язаний зразок або стандарт змивали з планшета і до кожної лунки мікропланшета додавали HRP-Streptavidin (SABC) та інкубували. Потім до кожної лунки додавали розчин субстрату ТМВ. Ферментно-субстратну реакцію зупиняли додаванням розчину кислоти, а зміну кольору вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 450 нм.

Концентрацію 8-OHdG у зразках визначали шляхом порівняння оптичної щільності (OD) зразків зі стандартною кривою. Концентрація 8-OHdG була обернено пропорційною значенню OD450.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента й однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними з  $p \leq 0,05$ . Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel (USA) та Statistica 10.0 (StatSoft).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** 8-ізопростани належать до групи біологічно активних сполук, які утворюються внаслідок неферментативного вільнорадикального окиснення арахідонової кислоти, що входить до складу фосфоліпідів клітинних мембран. Оскільки ізопростани формуються без участі ферментативних систем, їхній рівень відображає саме інтенсивність окисдаєтвних процесів в організмі. Завдяки високій стабільності та відносній інертності до метаболічних перетворень 8-ізопростани часто називають «золотим стандартом» маркерів вільнорадикального пошкодження ліпідів.

Результати визначення рівня 8-ізопростанів у сироватці крові демонструють поступове наростання окисдаєтвного стресу за наявності метаболічного синдрому, яке тісно корелює з тривалістю перебігу експерименту (табл. 1).

У I групі (6 тижнів) у тварин із МС рівень 8-ізопростанів був на 25,6 % вищим, ніж у контрольних щурів. Це свідчить, що навіть на початковому етапі патології вже формується активація процесів вільнорадикального окиснення. Із застосуванням молекулярного водню мала місце тенденція до незначного зниження концентрації 8-ізопростанів порівняно з некоригованою підгрупою МС, що відображає тенденцію до антиоксидантного впливу молекулярного водню вже на ранніх етапах розвитку метаболічних порушень.

У II групі (12 тижнів) відзначено суттєве посилення окисдаєтвного стресу. У підгрупі з МС концентрація 8-ізопростанів зросла в 1,75 раза порівняно з контролем тієї самої групи і на 58 % перевищувала показники МС I групи. Це вказує на прогресуюче накопичення

продуктів перекисного окиснення ліпідів. Натомість у тварин, які отримували молекулярний водень, рівень 8-ізопростанів був на 34 % нижчим, ніж у некоригованій підгрупі. Ба більше, показники коригованої підгрупи лише на 15 % перевищували контрольні значення, що підтверджує виражений антиоксидантний потенціал молекулярного водню на середніх етапах розвитку патології.

Найбільш драматичні зміни зафіксовані у III групі (20 тижнів). У контрольних щурів рівень 8-ізопростанів був на 60 % вищим, ніж у контролі I групи, що відображає вікове підсилення процесів оксидативного стресу. У тварин із МС показники зросли майже у 2,7 раза порівняно з контролем тієї самої групи та більш ніж утричі порівняно з відповідними значеннями I групи. Це підкреслює значне накопичення окисних ушкоджень за тривалого перебігу метаболічного синдрому. Застосування молекулярного водню дало змогу знизити концентрацію 8-ізопростанів на 30,6 % порівняно з підгрупою МС.

Узагальнюючи, можна відзначити кілька ключових тенденцій: рівень 8-ізопростанів у контрольних тварин зростав із тривалістю експерименту, що вказує на вікове підсилення вільнорадикального окислення ліпідів; у всіх групах тварини з МС демонстрували вищі значення маркерів окиснення ліпідів, причому інтенсивність росту прискорювалась із часом; молекулярний водень виявив найбільшу ефективність на середніх і пізніх етапах перебігу МС; хоча водень значно зменшував прояви оксидативного стресу, він не призводив до повної нормалізації маркерів до рівня контрольних щурів, що свідчить про стійкість патологічних змін при МС.

Протеїн-карбоніли – це продукти окисної модифікації білків, які утворюються під впливом активних форм кисню та вільнорадикальних реакцій. Найчастіше вони виникають унаслідок окиснення бічних ланцюгів амінокислот (зокрема, проліну, аргініну, лізину, треоніну) з формуванням стабільних карбонільних груп (альдегідів або кетонів) у білковій молекулі. Їх визначення має високу діагностичну цінність, оскільки вміст протеїн-карбонілів вважається надійним і відносно стабільним маркером білкового окисного пошкодження.

На ранньому етапі розвитку метаболічних порушень у 6-тижневих тварин рівень протеїн-карбонілу в щурів із метаболічним синдромом зріс на 61 % порівняно з контрольними тваринами (табл. 2). Таке зростання свідчить про активізацію процесів окисної

Таблиця 1 – Концентрація 8-ізопростанів у сироватці крові щурів з МС за корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M + m; n = 10)

Групи тварин		8-ізопростани, пг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	450,20 + 38,4
	МС	565,24 + 42,5
	МС + H <sub>2</sub>	550,52 + 38,6
II група (12 тижнів)	Контроль	510,64 + 52,5
	МС	895,22 + 58,8* @
	МС + H <sub>2</sub>	590,10 + 42,4**
III група (20 тижнів)	Контроль	720,14 + 65,5# ##
	МС	1945,25 + 165,5* @ @ @
	МС + H <sub>2</sub>	1350,86 + 115,2* ** & & &

Примітка для цієї і наступних таблиць. Контроль – щури контрольної підгрупи; МС – щури з метаболічним синдромом; МС + H<sub>2</sub> – щури з метаболічним синдромом, яким проводили корекцію збагаченою молекулярним воднем водою.

У межах кожної групи зміни достовірні: \* – порівняно з тваринами контрольної підгрупи, \*\* – порівняно з тваринами підгрупи МС.

# – порівняно з контрольною підгрупою групи I; ## – порівняно з контрольною підгрупою групи II.

@ – порівняно з підгрупою МС групи I; @ @ – порівняно з підгрупою МС групи II.

\* & – порівняно з підгрупою МС + H<sub>2</sub> групи I; \* & & – порівняно з підгрупою МС групи II.

Зміни вважаються достовірними з  $p \leq 0,05$ .

деструкції білкових молекул уже на початковій стадії метаболічних порушень. Застосування молекулярного водню у цій групі тварин призвело лише до незначного (на 9 %) зменшення цього показника. Водночас він залишався на 47 % вищим, ніж у контрольних тварин. Отже, на ранньому етапі спостерігався лише незначний антиоксидантний ефект молекулярного водню, який не дав змоги досягти достовірного поліпшення показника інтенсивності окислювальної модифікації білків.

З подовженням експерименту до 12 тижнів рівень протеїн-карбонілу в контрольних тварин підвищився в 1,4 раза порівняно з 6-тижневими тваринами, що, ймовірно, відображає вікові зміни інтенсивності процесів окиснення білків. У тварин із метаболічним синдромом спостерігалось ще виразніше зростання – показник вмісту протеїн-карбонілу перевищував контрольні значення в 1,9 раза. Також варто відмітити, що у тварин, яким МС моделювали протягом 12 тижнів, рівень протеїн-карбонілу був достовірно (в 1,6 раза) вищим за аналогічний показник у щурів, яким МС викликали протягом 6 тижнів.

У разі корекції збагаченою воднем водою рівень протеїн-карбонілу знижувався на 27 % порівняно з групою МС ( $p \leq 0,05$ ). Однак цей

рівень усе ще залишався на 36 % вищим, ніж у контрольній групі. Таким чином, у 12-тижневий період проявлявся більш виразний протекторний ефект молекулярного водню, ніж на ранніх етапах. Це може бути пов'язано з наростанням оксидативного навантаження, на тлі якого антиоксидантні властивості водню реалізуються повніше.

У тривалішому експерименті (20 тижнів) виявлено ще більш значне зростання рівня протеїн-карбонілу у групі МС (у 2,3 раза перевищував контроль). Це вказує на прогресивне посилення окисної модифікації білків за подовження перебігу метаболічних порушень.

Спостерігалось також накопичення продуктів пероксидації білків у міру старіння експериментальних тварин – у контрольній підгрупі щурів III групи рівень протеїн-карбонілу був в 1,8 раза вищим за такий у контролі I групи.

Застосування молекулярного водню протягом 20 тижнів знизило показник вмісту протеїн-карбонілу на 25 % порівняно з підгрупою МС. Водночас порівняно з контролем цей рівень залишався підвищеним на 71 %, що свідчить про неповне усунення патологічних змін навіть за тривалого застосування молекулярного водню.

Отримані результати демонструють чітку закономірність: розвиток метаболічного синдрому в щурів супроводжується прогресивною активізацією окисної модифікації білків у сироватці крові. Використання води, збагаченої молекулярним воднем, у всіх часових точках сприяє зниженню рівня протеїн-карбонілу, що свідчить про здатність молекулярного водню модулювати процеси оксидативного пошкодження білків. Разом із тим навіть за умови тривалого застосування молекулярного водню показники не

досягали контрольних значень, що вказує на обмежений характер захисної дії та неможливість повного усунення наслідків метаболічних порушень.

8-гідроксидеоксигуанозин (8-OHdG) належить до найбільш досліджуваних продуктів окисної модифікації ДНК і вважається чутливим індикатором оксидативного стресу. Він утворюється внаслідок ушкодження гуанінових залишків під дією активних форм кисню, зокрема гідроксильних радикалів, які легко взаємодіють з азотистими основами. Уражений гуанін зазнає структурної перебудови, і після деградації ДНК у клітині вивільняється нуклеозид 8-OHdG, що може визначатися в біологічних рідинах.

У щурів із метаболічним синдромом було відзначено чітке зростання рівня 8-OHdG у сироватці крові порівняно з інтактними тваринами, що підтверджує оксидативне ушкодження ДНК за цієї патології (табл. 3). Уже на шостому тижні експерименту рівень цього маркера в щурів з МС був вищим майже в 1,7 раза, ніж у контрольних тварин. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, на цьому етапі призвело лише до незначного зниження вмісту 8-OHdG у сироватці – рівень показника виявився нижчим приблизно на 12 % порівняно з нелікованими щурами з МС.

На 12-му тижні в щурів із МС концентрація 8-OHdG була майже вдвічі вищою (приблизно на 96 %) порівняно з контролем, що свідчить про наростання окисного стресу за тривалого перебігу патології. Застосування води з молекулярним воднем зменшувало цей показник на 14 % порівняно з тваринами без корекції, проте зниження знову ж таки не набувало статистичної достовірності. Водночас у групі з корекцією рівень залишався підвищеним приблизно на 68 % порівняно з контролем, що вказує на неповне відновлення балансу між утворенням і нейтралізацією оксидативних ушкоджень.

Найбільш виражений ефект від застосування води, збагаченої молекулярним воднем, було відзначено на 12-му тижні експерименту. У тварин із МС без корекції вміст 8-OHdG зростав приблизно на 63 % порівняно з контролем. Додавання молекулярного водню до питної води зумовлювало достовірне зниження цього маркера в сироватці крові – приблизно на 32 % порівняно з нелікованими тваринами з МС.

Аналіз міжгрупових змін підтверджує прогресуючий характер патологічного процесу. У щурів із МС 8-OHdG на 12-му тижні був

Таблиця 2 – Вміст протеїн-карбонілу в сироватці крові щурів з МС за корекції збагаченою молекулярним воднем водою (M + m; n = 10)

Групи тварин		Протеїн карбоніл, нмоль/мг протеїну
I група (6 тижнів)	Контроль	7,52 ± 0,38
	МС	12,12 ± 1,18*
	МС + H <sub>2</sub>	11,05 ± 0,94*
II група (12 тижнів)	Контроль	10,40 ± 0,95 <sup>#</sup>
	МС	19,42 ± 1,35* <sup>@</sup>
	МС + H <sub>2</sub>	14,12 ± 0,98* <sup>**, &amp;</sup>
III група (20 тижнів)	Контроль	13,20 ± 1,05 <sup>#</sup>
	МС	30,15 ± 3,15* <sup>@, @@</sup>
	МС + H <sub>2</sub>	22,64 ± 2,85* <sup>**, &amp;, &amp;&amp;</sup>

на 65 % вищим, ніж у тварин з тією самою патологією на шостому тижні, а на 20-му тижні цей показник перевищував початковий рівень майже вдвічі. Подібна, хоча й менш виражена, тенденція простежувалася і в інтактних тварин. Це вказує на віковий компонент у формуванні оксидативного пошкодження, який потрібно враховувати під час інтерпретації даних.

Отже, метаболічний синдром призводить до суттєвого посилення окисного ушкодження ДНК, що проявляється достовірним зростанням рівня 8-OHdG. Молекулярний водень має здатність знижувати ці прояви, проте статистично значущий ефект проявляється лише за тривалого застосування.

Отримані нами дані свідчать, що тривале моделювання метаболічного синдрому призводить до накопичення оксидативних ушкоджень різного типу – підвищуються маркери ліпопероксидації (8-ізопростани), білкового оксидативного пошкодження (протеїн-карбоніли) і окисного пошкодження ДНК (8-OHdG). Молекулярний водень послаблював це накопичення, причому ефект був найвиразнішим на середніх і пізніх стадіях експерименту. Такий ефект водню, очевидно, реалізується через кілька взаємопов'язаних молекулярних і клітинних механізмів, що частково відмічаються в сучасних оглядових і експериментальних роботах [5].

Насамперед слід зазначити роль прямої хімічної взаємодії  $H_2$  з найреактивнішими формами кисню. У низці досліджень показано, що молекулярний водень селективно реагує з гідроксильним радикалом ( $\bullet OH$ ) і пероксинітритом ( $ONOO^-$ ) – саме ці сполуки мають найвищу реакційну здатність і безпосередньо ініціюють пероксидацію ліпідів, карбонілювання білків та окисну модифікацію нуклеїнових основ. Тож селективне

зниження концентрацій цих радикалів може пояснити одночасне зниження 8-ізопростанів, протеїн-карбонілів і 8-OHdG у тварин, що отримували  $H_2$ . Однак слід зауважити, що пряма хімічна нейтралізація радикалів не є єдиним або повністю достатнім механізмом дії за хронічних патологій; сучасні огляди підкреслюють, що, крім прямого «хімічного» ефекту,  $H_2$  модулює клітинні сигнальні мережі [5; 8].

Другим важливим механізмом є активація ендогенної антиоксидантної системи, зокрема індукція сигнального шляху Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2). Є експериментальні докази того, що  $H_2$  сприяє транслокації Nrf2 у ядро та підвищенню експресії його таргетних генів (HO-1, SOD, GPx тощо), що призводить до підвищення детоксикаційного потенціалу клітин. Такий механізм пояснює кумулятивний характер відновлення антиоксидантного гомеостазу за тривалого застосування  $H_2$ , оскільки індукція транскрипційних програм потребує часу й забезпечує стійке підвищення захисних можливостей клітини. Активація Nrf2 також пов'язана з гальмуванням запальної відповіді та захистом мітохондріальної функції – обидва ці ефекти важливі за метаболічних порушень [9].

Третій взаємопов'язаний напрям – протизапальна дія молекулярного водню. Окислювальний стрес і запалення утворюють замкнене коло: надлишкова продукція прозапальних цитокінів стимулює генерацію реактивних форм кисню, а вони, зі свого боку, підтримують запалення. У декількох роботах показано, що  $H_2$  знижує рівень NF- $\kappa$ B-залежної трансактивації та знижує продукцію TNF- $\alpha$ , IL-6 та інших прозапальних медіаторів. За моделювання метаболічного синдрому цей механізм є критичним, оскільки зменшення хронічного низькоступеневого запалення опосередковано знижує і оксидативний тиск на ліпіди, білки та ДНК. Таким чином, протизапальна дія  $H_2$  посилює його антиоксидантний ефект і пояснює частину спостережуваного клітинного «відновлення» у тривалій перспективі [5].

Четвертий аспект пов'язаний із впливом на мітохондрії і регуляцію окиснювального метаболізму. Є повідомлення, що  $H_2$  може сприяти відновленню функції мітохондріальних комплексів, знижувати надлишкову генерацію супероксиду в дихальному ланцюгу та нормалізувати співвідношення  $NAD^+/NADH$ . У контексті метаболічного синдрому, де порушення метаболізму й дисфункція

Таблиця 3 – Вміст 8-гідроксидеоксигуанозину в сироватці крові щурів з MC за корекції збагаченою молекулярним воднем водою ( $M + m$ ;  $n = 10$ )

Групи тварин		8-гідроксидеоксигуанозин, нг/мл
I група (6 тижнів)	Контроль	27,50 + 2,35
	MC	45,62 + 3,88*
	MC + $H_2$	40,15 + 3,72*
II група (12 тижнів)	Контроль	38,60 + 2,98#
	MC	75,46 + 6,34*.*@
	MC + $H_2$	64,82 + 6,08*.*&
III група (20 тижнів)	Контроль	54,26 + 5,35#.*##
	MC	88,25 + 7,18*.*@
	MC + $H_2$	60,04 + 5,22**.*&

мітохондрій лежать в основі підвищеної генерації активних форм кисню, такі ефекти є важливими для зниження хронічного джерела окисного навантаження. Комбінований вплив на мітохондрії та ядерні сигнальні шляхи робить H<sub>2</sub> перспективним для корекції метаболічних дисфункцій [10].

З практичного погляду наші результати підкреслюють потенціал H<sub>2</sub> як компонента комплексної терапії метаболічного синдрому: його застосування може знизити оксидативне ушкодження ліпідів, білків і ДНК, що, зі свого боку, потенційно уповільнить розвиток ускладнень (атерогенез, нефропатія, нейродегенерація). Водночас впровадження в клініку потребує подальших досліджень: рандомізованих контрольованих випробувань із чітко визначеними режимами H<sub>2</sub>, довготривалими кінцевими точками та вивченням молекулярних

біомаркерів (Nrf2-індекс, NF-κB-активність, мітохондріальні показники).

**ВИСНОВКИ.** 1. Моделювання метаболічного синдрому в щурів супроводжується вираженим підвищенням маркерів оксидативного стресу – 8-ізопростанів, протеїн-карбонілу та 8-гідроксидеооксигуанозину, що свідчить про пошкодження ліпідів, білків і ДНК.

2. Застосування води, збагаченої молекулярним воднем, достовірно знижує рівень маркерів оксидативного ушкодження, причому найвиразніший ефект спостерігається на середніх і пізніх етапах розвитку патології.

3. Антиоксидантна дія молекулярного водню має захисний характер, що підтверджує його перспективність як компонента комплексної терапії метаболічного синдрому та потребує подальших досліджень механізмів дії.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sherling D. H., Perumareddi P., Hennekens C. H. Metabolic Syndrome. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2017. Vol. 22, No. 4. P. 365–367. DOI: 10.1177/1074248416686187
2. Saklayen M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*. 2018. Vol. 20, No. 2. Article 12. DOI: 10.1007/s11906-018-0812-z
3. Masenga S. K., Kabwe L. S., Chakulya M., Kirabo A. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*. 2023. Vol. 24, No. 9. Article 7898. DOI: 10.3390/ijms24097898
4. Kawamura T., Higashida K., Muraoka I. Application of Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant in Sports Science. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020. 2328768. DOI: 10.1155/2020/2328768
5. Xie F., Song Y., Yi Y., Jiang X., Ma S., Ma C., Li J., Zhanghuang Z., Liu M., Zhao P., Ma X. Therapeutic Potential of Molecular Hydrogen in Metabolic Diseases from Bench to Bedside. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*. 2023. Vol. 16, No. 4. Article 541. DOI: 10.3390/ph16040541
6. Dhillon G., Buddhavarapu V., Grewal H., Sharma P., Verma R. K., Munjal R., Devadoss R., Kashyap R. Hydrogen Water: Extra Healthy or a Hoax? – A Systematic

Review. *International journal of molecular sciences*. 2024. Vol. 25, No. 2. Article 973. DOI: 10.3390/ijms25020973

7. Sim M., Kim C. S., Shon W. J., Lee Y. K., Choi E. Y., Shin D. M. Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific reports*. 2020. Vol. 10, No. 1. Article 12130. DOI: 10.1038/s41598-020-68930-2

8. Slezák J., Kura B., Frimmel K., Zálešák M., Ravingerová T., Vízenczová C., Okruhlicová L., Tribulová N. Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals. *Physiological research*. 2016. Suppl. 1. P. S11–S28. DOI: 10.33549/physiolres.933414

9. Kawamura T., Wakabayashi N., Shigemura N., Huang C. S., Masutani K., Tanaka Y., Noda K., Peng X., Takahashi T., Billiar T. R., Okumura M., Toyoda Y., Kensler T. W., Nakao A. Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*. 2013. Vol. 304, No. 10. P. L646–L656. DOI: 10.1152/ajplung.00164.2012

10. Rahman M. H., Jeong E. S., You H. S., Kim C. S., Lee K. J. Redox-Mechanisms of Molecular Hydrogen Promote Healthful Longevity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2023. Vol. 12, No. 5. Article 988. DOI: 10.3390/antiox12050988

#### REFERENCES

1. Sherling, D. H., Perumareddi, P., & Hennekens, C. H. (2017). Metabolic Syndrome. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 22 (4), 365–367. <https://doi.org/10.1177/1074248416686187>
2. Saklayen M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*, 20 (2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>

3. Masenga, S. K., Kabwe, L. S., Chakulya, M., & Kirabo, A. (2023). Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24 (9), 7898. <https://doi.org/10.3390/ijms24097898>

4. Kawamura, T., Higashida, K., & Muraoka, I. (2020). Application of Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant in Sports Science. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 2328768. <https://doi.org/10.1155/2020/2328768>

5. Xie, F., Song, Y., Yi, Y., Jiang, X., Ma, S., Ma, C., Li, J., Zhanghuang, Z., Liu, M., Zhao, P., & Ma, X. (2023). Therapeutic Potential of Molecular Hydrogen in Metabolic Diseases from Bench to Bedside. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16 (4), 541. <https://doi.org/10.3390/ph16040541>

6. Dhillon, G., Buddhavarapu, V., Grewal, H., Sharma, P., Verma, R. K., Munjal, R., Devadoss, R., & Kashyap, R. (2024). Hydrogen Water: Extra Healthy or a Hoax? – A Systematic Review. *International journal of molecular sciences*, 25 (2), 973. <https://doi.org/10.3390/ijms25020973>

7. Sim, M., Kim, C. S., Shon, W. J., Lee, Y. K., Choi, E. Y., & Shin, D. M. (2020). Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific reports*, 10 (1), 12130. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68930-2>

8. Slezák, J., Kura, B., Frimmel, K., Zblešák, M., Ravingerová, T., Viczenczová, C., Okruhlicová, L., & Tribulová, N. (2016). Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals. *Physiological research*, 65 Suppl 1, S11–S28. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933414>

9. Kawamura, T., Wakabayashi, N., Shigemura, N., Huang, C.S., Masutani, K., Tanaka, Y., Noda, K., Peng, X., Takahashi, T., Billiar, T. R., Okumura, M., Toyoda, Y., Kensler, T. W., & Nakao, A. (2013). Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 304(10), L646–L656. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00164.2012>

10. Rahman, M. H., Jeong, E. S., You, H. S., Kim, C. S., & Lee, K. J. (2023). Redox-Mechanisms of Molecular Hydrogen Promote Healthful Longevity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12 (5), 988. <https://doi.org/10.3390/antiox12050988>

Адреса для листування: [kravchuk\\_ius@tdmu.edu.ua](mailto:kravchuk_ius@tdmu.edu.ua)

Yu. S. Kravchuk, M. M. Korda

IVAN HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## THE EFFECT OF WATER ENRICHED WITH MOLECULAR HYDROGEN ON OXIDATIVE STRESS INDICATORS IN RATS WITH METABOLIC SYNDROME

### Summary

**Introduction.** Metabolic syndrome (MS) is a multifactorial condition that includes obesity, insulin resistance, arterial hypertension, and dyslipidemia. A key link in its pathogenesis is oxidative stress, which leads to damage to lipids, proteins, and DNA. In recent years, molecular hydrogen has attracted attention as a selective antioxidant with the potential to reduce the manifestations of oxidative imbalance.

**Objective.** To determine the effect of molecular hydrogen-enriched water on oxidative stress indicators in rats with experimentally induced metabolic syndrome.

**Research methods.** The study was conducted on 90 white male Wistar rats, divided into groups depending on the duration of the experiment (6, 12, and 20 weeks). MS was modeled by keeping the animals on a high-calorie diet. Some of the rats received water enriched with molecular hydrogen (0.6 ppm). The levels of 8-isoprostanes, protein carbonyls, and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were determined in blood serum using ELISA and spectrophotometry. Statistical analysis was performed using Student's *t*-test and ANOVA at  $p \leq 0.05$ .

**Results and discussion.** In animals with MS, a significant increase in oxidative stress markers was observed: the level of 8-isoprostanes exceeded the control values by almost 2.7 times, protein carbonyls by 2.3 times, and 8-OHdG by two times (20th week of the experiment). The consumption of hydrogen-enriched water significantly reduced these indicators: the concentration of 8-isoprostanes decreased by 30 %, protein carbonyls by 25 %, and 8-OHdG by 32 % compared to animals without correction. The most pronounced effect was observed in the middle and late stages of the pathology, indicating the cumulative effect of molecular hydrogen. At the same time, the indicators did not reach control levels, indicating incomplete elimination of oxidative damage.

**Conclusions.** MS is accompanied by a progressive accumulation of oxidative damage to lipids, proteins, and DNA. Water enriched with molecular hydrogen significantly reduces markers of oxidative stress, most effectively with prolonged use. The antioxidant effect of molecular hydrogen has a protective effect, which determines its promise as an additional agent in the complex therapy of MS.

KEY WORDS: metabolic syndrome; oxidative stress; 8-isoprostanes; protein carbonyl; 8-hydroxydeoxyguanosine; molecular hydrogen.

Стаття надійшла до редакції 19.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



**Н. В. Горлачук**  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## РОЗРОБКА УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ ПРЕГАБАЛІНУ ІЗ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

**Вступ.** Лікарський препарат Прегабалін (торговельні назви: «Габана», «Лірика», «Прегабалін», «Альгерика», «Репліка») знайшов широке застосування в медицині, як протисудомний та анальгетичний засіб. Починаючи з 2008 р. реєструються випадки немедичного застосування препарату, частіше наркозалежними особами, у завищених дозуваннях для отримання схожої з наркотичною дією, «посилення» ефекту наркотичних та інших психоактивних засобів.

**Мета дослідження** – розробка методики ізолювання та визначення прегабаліну з біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції, у тому числі для цілей хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА).

**Методи дослідження.** Дослідження виконували з модельними пробами плазми крові та сечі, які містили прегабалін. Під час дослідження крові осаджували попередньо формені елементи з додаванням 10%-го розчину кислоти трихлорацетатної. Екстракційне очищення виконували діетиловим ефіром та екстрагували препарат із біологічних рідин хлороформом за рН середовища 11. Отримані екстракти додатково піддавали ТШХ-очищенню. Прегабалін в елюатах із хроматограм визначали УФ-спектрофотометричним методом.

**Результати та їх обговорення.** Значення  $R_f$  прегабаліну в рухомій фазі – толуол – ацетон – етанол – 25%-й аміак (45 : 45 : 7 : 3) становило  $0,64 \pm 0,02$ . Найбільш чутливим для виявлення прегабаліну виявився розчин нінгідрину. Межа кількісного визначення (LOD) за використання цього реактиву становить 0,1 мкг препарату в пробі. УФ-спектри елюатів із хроматограм мали максимум світлопоглинання за довжини хвилі  $203 \pm 2$ , а за характером світлопоглинання збігалися з УФ-спектром стандартного розчину прегабаліну в метанольному розчині. Кількісне визначення виконували за  $\lambda_{\max}$  203 нм за рівнянням калібрувального графіка  $y = 0,0991x - 0,0696$ . Розроблені методики дали змогу виділити із сечі  $51,32 \pm 0,85$  % прегабаліну, з плазми крові –  $31,27 \pm 0,81$  %.

**Висновки.** Визначено ефективні умови пробопідготовки біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції прегабаліну. Ці результати мають практичне значення для створення алгоритму токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на наявність зазначеного лікарського засобу за летальних інтоксикацій.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хіміко-токсикологічний аналіз; прегабалін; метод рідинно-рідинної екстракції; біологічні рідини.

ВСТУП. Актуальною проблемою сучасного суспільства є вживання наркотичних і психоактивних речовин. За останні роки в Україні та в інших європейських країнах відмічається підвищений попит на так звані аптечні наркотики, зокрема на лікарські засоби – похідні  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК). Найпопулярніший із них прегабалін.

Перший випадок зловживання препаратом зафіксовано у Швеції у 2008 р., було відзначено зростання застосування прегабаліну з немедициними цілями [1]. У 2010–2022 рр. випадки отруєння описані також у США, Франції, Німеччині та Туреччині [2–4].

Виходячи з клінічного досвіду, лікарі наголошують на можливості формування залежності від прегабаліну, спочатку психічної, а потім і фізичної. Нерідко це пацієнти із хімічною залежністю та депресивними розладами. У разі тривалого вживання препарату у високих

дозах виникає стійка та виражена ейфорія. І це обов'язково призводить до бажання повторного приймання прегабаліну [5].

Цей препарат використовується переважно в неврологічній практиці: у разі невропатичного болю, як додатковий засіб, що призначається хворим із парціальними судомними нападами, за наявності фіброміалгії [6; 7; 8].

Відомі випадки гострих і смертельних отруєнь препаратом, а також комбіновані отруєння препаратами групи антидепресантів, протиепілептичними засобами, похідними бензодіазепіну й іншими засобами. У літературі є повідомлення про отруєння та зловживання суто прегабаліном [9–12]. У зв'язку із цим є потреба у його визначенні в спрямованому хіміко-токсикологічному дослідженні (ХТД).

**МЕТА НАШОГО ДОСЛІДЖЕННЯ** – розробка методики ізолювання та визначення прегабаліну з біологічних рідин методом

рідинно-рідинної екстракції, для цілей хіміко-токсикологічного аналізу.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Під час дослідження використовували прегабалін, виділений із капсул «Габана», що містили 150 мг прегабаліну в капсулі. Для побудови калібрувального графіка готували стандартний розчин (СР) і робочі стандартні розчини (РСР) прегабаліну. 0,02550 г препарату розчиняли в метанолі в мірній колбі місткістю 50,00 мл (отримано СР із концентрацією 500,0 мкг/мл прегабаліну). Для приготування РСР у мірні колби місткістю 10,00 мл вносили по 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00; 6,00; 8,00 та 9,00 мл СР і доводили об'єми розчинів до мітки метанолом із такими концентраціями: 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0; 300,0; 400,0 та 450,0 мкг/мл відповідно). Вимірювали світлопоглинання отриманих СР і РСР на спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 за  $\lambda_{\max} = 203$  нм, використовуючи кювету із шаром рідини завтовшки 10 мм. Як розчин порівняння застосовували розчин, отриманий у «сліпому» досліді.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Ідентифікацію прегабаліну в біологічних екстрактах виконували методом ТШХ за величиною  $R_f$ , яка в рухомій фазі толуол – ацетон – етанол – 25%-й аміак (45 : 45 : 7 : 3) становила  $0,64 \pm 0,02$ . Також досліджували УФ-спектри елюатів із хроматограм, які за характером світлопоглинання збігалися з УФ-спектром стандартного розчину прегабаліну в метанолі та мали максимуми світлопоглинання за довжини хвилі  $203 \pm 2$  нм.

Значення світлопоглинання для СР і 9 РСР ( $m = 10$ ;  $n = 2$ ) було оброблено методом лінійної регресії та отримано рівняння калібрувального графіка:  $y = 0,0991x - 0,0696$  ( $r = 0,9998$ ;  $S_2 = 1,2 \cdot 10^{-4}$ ).

**Ізолювання прегабаліну з плазми крові.** До донорської плазми крові з об'ємом 10 мл додавали 2 мл водного розчину прегабаліну, еквівалентного 1000 мкг. Утворену суміш залишили на добу.

До зразків плазми крові, що містив прегабалін, додавали 10 мл розчину трихлороцтової кислоти 10 %, перемішували і 20 хв центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв. Надосадову рідину зливали, а органічні домішки екстрагували двічі діетиловим ефіром по 10 мл кожного разу. Органічний шар зливали, водну фазу підлужнювали 30%-м розчином гідроксидом натрію до рН середовища 11, додавали сульфат амонію та екстрагували прегабалін два рази хлороформом кожного разу по 5 мл. Одержані екстракти об'єднували й фільтрували крізь паперовий фільтр з 0,5 г натрію сульфату безводного [13].

**Кількісне визначення прегабаліну в екстракті з плазми крові УФ-спектрофотометричним методом.** Екстракт, отриманий унаслідок ізолювання прегабаліну з плазми крові, випарювали у фарфоровій чашці на водяній бані за температури, що не перевищувала 40 °С до видалення органічного розчинника, залишок розчиняли в метанолі та знімали спектр поглинання в УФ-області.

УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну в метанолі, виділеного з плазми крові, представлено на рис. 1.

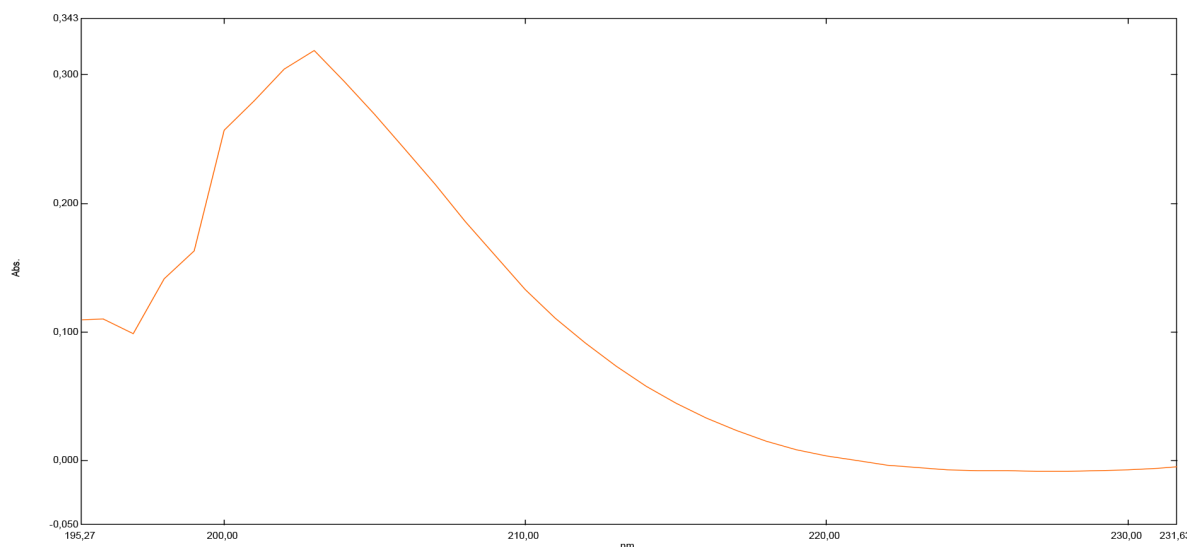


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну (в метанолі), виділеного із плазми крові

Таблиця 1 – Результати УФ-спектрофотометричного визначення прегабаліну, виділеного з крові

Додано прегабаліну до 10 мл крові, мкг	А	Виділено прегабаліну		Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0,95)
		мкг	%	
1000	0,316	316,2	31,6	X = 31,27 % S = 0,655 RSD = 2,09 % S <sub>x</sub> = 0,293 ΔX = 0,8132 ε = 2,6 %
	0,321	322	32,2	
	0,308	305,4	30,5	
	0,308	309,3	30,9	
	0,312	311,6	31,16	

Ступінь ізолювання прегабаліну з плазми крові, визначений із застосуванням УФ-спектрофотометричного методу, наведено в таблиці 1.

**Ізолювання прегабаліну із сечі.** Визначення проводили з модельними зразками сечі. До 10 мл сечі людини додавали 2 мл прегабаліну, еквівалентного 1000 мкг. Отриману суміш залишали на добу.

Модельні зразки сечі підкислювали 0,1 М розчином хлоридної кислоти до рН середовища 1–2 та екстрагували органічні домішки діетиловим ефіром по 10 мл двічі. Органічний шар розчинника відкидали, а водну фазу підлужнювали 30%-м розчином гідроксиду натрію до рН 11, додавали розчин сульфату

амонію та екстрагували прегабалін хлороформом по 10 мл два рази [13].

Ідентифікацію і кількісне визначення прегабаліну в отриманому екстракті із сечі проводили методом УФ-спектрофотометрії.

**Кількісне визначення прегабаліну в екстракті із сечі УФ-спектрофотометричним методом.** Екстракт, отриманий унаслідок ізолювання прегабаліну із сечі, досліджували УФ-спектрофотометричним методом. УФ-спектр прегабаліну в метанолі, виділеного із сечі, представлено на рис. 2.

Як бачимо, за допомогою розроблених методик із сечі можна виділити  $51,32 \pm 0,85$  % прегабаліну, із плазми крові –  $31,27 \pm 0,81$  %.

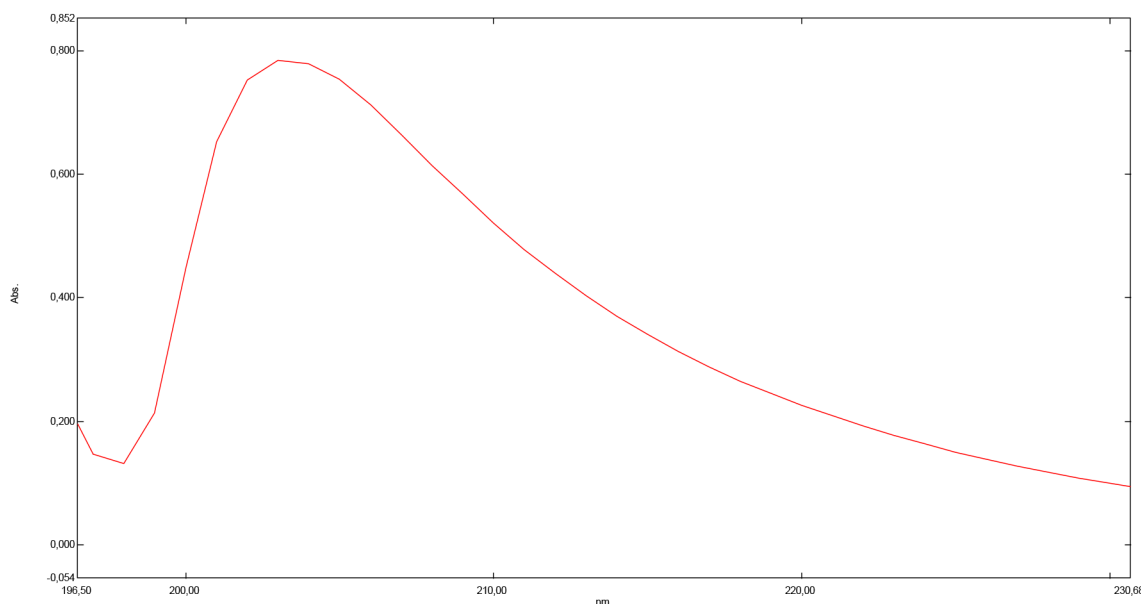


Рис. 2. УФ-спектр світлопоглинання прегабаліну (в метанолі), виділеного із сечі

Таблиця 2 – Результати УФ-спектрофотометричного визначення прегабаліну, виділеного із сечі

Додано прегабаліну до 10 мл сечі, мкг	А	Виділено прегабаліну		Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0,95)
		мкг	%	
1000	0,501	503,2	50,3	X = 51,32 % S = 0,6870 RSD = 1,34 % S <sub>x</sub> = 0,30725 ΔX = 0,85305 ε = 1,662 %
	0,51	518,6	51,9	
	0,504	511,4	51,1	
	0,512	520,3	52	
	0,506	513,1	51,3	

**ВИСНОВКИ.** Визначено ефективні умови пробопідготовки біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції прегабаліну. Отримані результати мають практичне

значення для токсикологічного дослідження біологічних об'єктів на наявність зазначеного лікарського засобу в разі летальних інтоксикацій.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Becerra-Bolacos B., Armas-Domínguez L., Valencia L. Pain Prevalence and Satisfaction with Pain Management in Inpatients: A Cross-Sectional Study. *Healthcare (Basel)*. 2023. Vol. 11, No. 24. P. 311–316. DOI: 10.3390/healthcare11243191.
2. Manjushree N., Chakraborty A., Shashidhar K., Narayanaswamy S. A review of the drug pregabalin. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2017. Vol. 4, No. 4. P. 601–605. DOI: 10.18203/2319-2003.ijbcp20150359
3. Nahar L., Murphy K., Paterson S. Toxicological Relevance of Pregabalin in Heroin Users: A Two-Year Postmortem Population Study. *Journal of Analytical Toxicology*. 2022. Vol. 46, No. 5. P. 471–478. DOI: 10.1093/jat/bkab070
4. Shintani-Ishida K., Kawamoto M., Kondo H. Fatal pregabalin poisoning in Japan: A case report. *Legal Medicine (Tokyo)*. 2024. Vol. 71. P. 102–112. DOI: 10.1016/j.legalmed.2024.102522
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5486971, Pregabalin. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971>
6. Дельва М. Ю., Хаустова Є. А., Зайченко А. В. Теорія і практика застосування прегабаліну: погляд невролога, психіатра та клінічного фармаколога. *Неврологія і нейрохірургія. Східна Європа*. 2020. Т. 10, № 4. С. 69–74. DOI: 10.1126/science.288.5472.1769.
7. Henderson J., Piquette-Miller M. Blood-brain barrier: An impediment to neuropharmaceuticals. *Clinical*

- Pharmacology & Therapeutics*. 2015. Vol. 97, No. 4. P. 308–313. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.05.059
8. Morrison E. A., Sandilands D. J., Webb D. P. Gabapentin and pregabalin: do the benefits outweigh the harms. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2017. Vol. 47, No. 4. P. 310–313. DOI: 10.4997/jrcpe.2017.402
9. Zhang Z. et al. Pregabalin mitigates microglial activation and neuronal injury by inhibiting HMGB1 signaling pathway in radiation-induced brain injury. *Journal of Neuroinflammation*. 2022. Vol. 19, No. 1. P. 61–65. DOI: 10.1186/s12974-022-02596-7
10. Rietjens S. J., Sikma M. A., Hunault C. C. Pregabalin poisoning: Evaluation of dose-toxicity relationship. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2022. Vol. 88, No. 3. P. 1288–1297.
11. Almontashiri N., AL Farga A. Determining the Toxicological Significance of Pregabalin in Fatalities. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2020. Vol. 30, No. 3. P. 284–290. DOI: 10.26717/BJSTR.2020.30.004962
12. Sastre C., Baillif-Couniou V., Fabresse N. Pregabalin misuse: About seven cases of death in the region of Marseille. *Journal of Analytical and Clinical Toxicology*. 2021. Vol. 30, No. 3. P. 234–239. DOI: 10.1016/toxas.2021.12.006.
13. Карпушина С. А., Баярка С. В., Галькевич І. Й., Ігліцька С. І., Алтухов О. О., Билов І. Є. Розробка умов ізолювання антидепресанту пароксетину з біологічних рідин. *Вісник фармації*. 2024. Т. 107, № 1. С. 119–124.

## REFERENCES

1. Becerra-Bolacos, B., Armas-Domínguez, A., Valencia, L. (2023). Pain Prevalence and Satisfaction with Pain Management in Inpatients: Cross-Sectional Study *Healthcare (Basel)*, 11 (24), 311–316.
2. Manjushree, N., Chakraborty, A., Shashidhar, K., Narayanaswamy, S. (2017). Review of the drug pregabalin. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 4 (4), 601–605.
3. Nahar, L., Murphy, K., Paterson, S. (2022). Toxicological Relevance of Pregabalin in Heroin Users: A Two-Year Postmortem Population Study. *Journal of Analytical Toxicology*, 46 (5), 471–478.
4. Shintani-Ishida, K., Kawamoto, M., Kondo, H. (2024). Fatal pregabalin poisoning in Japan: A case report *Legal Medicine (Tokyo)*, 1 (71), 102–112. DOI: 10.1016/j.legalmed.2024.102522
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5486971,

- Pregabalin*. PubChem.: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971>
6. Delva, M. Yu., Khaustova, Ye. A., Zaichenko, A. V. (2020). Teoriia i praktyka zastosuvannia prehabalinu: pohliad nevroloha, psykhiatra ta klinichnoho farmakoloaha. *Nevrolohii i neirokhirurhii. Skhidna Yevropa*, 10 (4), 69–74 [in Ukrainian].
7. Henderson, J., Piquette-Miller, M. (2015). Blood-brain barrier: An impediment to neuropharmaceuticals. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 97 (4), 308–313.
8. Morrison, E. A., Sandilands, D. J., Webb, D. O. (2017). Gabapentin and pregabalin: do the benefits outweigh the harms. *Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*, 47 (4), 310–313.
9. Zhang, Z. (2022). Pregabalin mitigates microglial activation and neuronal injury by inhibiting HMGB1 signaling pathway in radiation-induced brain injury. *Journal of Neuroinflammation*, 19 (1), 124–130.

10. Rietjens, S. J., Sikma, M. A., Hunault, C. C. (2022). Pregabalin poisoning: Evaluation of dose-toxicity relationship. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88 (3), 1288–1297.

11. Almutashiri, N. (2020). Determining the Toxicological Significance of Pregabalin in Fatalities. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 30 (3), 23449–23452.

12. Sastre, C., Baillif-Couniou, V., Fabresse, N. (2021). Pregabalin misuse: About seven cases of death in the region of Marseille. *Journal of Analytical and Clinical Toxicology*, 30 (3), 234–239.

13. Karpushyna, S. A., Baiurka, S. V., Halkevych, I. Y., Ihlitska, S. I., Altukhov, O. O., Bylov, I. Ye. (2024). Rozrobka umov izoliuvannia antydepresantu paroksetynu z biolohichnykh. *Visnyk farmatsii*, 107 (1), 119–124.

Адреса для листування: horlachuk@tdmu.edu.ua

N. V. Horlachuk

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR ISOLATION OF PREGABALIN FROM BIOLOGICAL FLUIDS

### Summary

**Introduction.** The drug Pregabalin (trade names: “Lyrica®”, “Pregabalin”, “Algerica”, “Replica”) has found wide application in Medicine as an anticonvulsant and analgesic. Since 2008, cases of non-medical use of the drug have been registered, most often by drug addicts, in high dosages to obtain a drug-like effect, to “enhance” the effect of narcotic and other psychoactive drugs, as well as to eliminate withdrawal syndrome after stopping taking drugs.

**The aim of the study** was to develop a method for isolating and determining pregabalin from biological fluids by liquid-liquid extraction, including for the purposes of chemical-toxicological analysis (CTA).

**Research methods.** The study was performed with model blood and urine samples containing pregabalin. During the blood study, the formed elements were pre-precipitated by adding 10 % trichloroacetic acid solution. Extractive purification was performed with hexane at pH 1 and the drug was extracted from biological fluids with chloroform at pH 8. The obtained extracts were additionally subjected to TLC purification. Pregabalin in eluates from chromatograms was determined by UV spectrophotometric method.

**Results and their discussion.** The Rf value of pregabalin in the mobile phase – toluene – acetone – ethanol – 25 % ammonia (45 : 45 : 7 : 3) was  $0.64 \pm 0.02$ . Ninhydrin was the most sensitive for the detection of pregabalin. The limit of quantification (LOD) when using this reagent is  $0.1 \mu\text{g}$  of the drug in the sample. The UV spectra of the eluates from the chromatograms had maximum light absorption at a wavelength of  $203 \pm 2$ , and the nature of the light absorption coincided with the UV spectrum of the standard solution of pregabalin in methanol solution. Quantitative determination was performed at  $\lambda_{\text{max}}$  203 nm according to the equation of the calibration graph  $y = 0.0991x - 0.0696$ . The developed methods allowed to isolate  $51.32 \pm 0.85$  % of pregabalin from urine, from blood plasma –  $31.27 \pm 0.81$  %.

**Conclusions.** Effective conditions for sample preparation of biological fluids by the method of liquid-liquid extraction for pregabalin have been determined. The results obtained are of practical importance for creating an algorithm for toxicological examination of biological objects for the presence of the specified drug in case of lethal intoxications.

KEY WORDS: chemical-toxicological analysis; pregabalin; liquid-liquid extraction method; biological materials.

Стаття надійшла до редакції 15.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



О. О. Бадюк, М. І. Марущак  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## ГОРМОНАЛЬНІ ПОРУШЕННЯ У ЖІНОК З НЕПЛІДДЯМ ТА ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ОРГАНІВ МАЛОГО ТАЗА НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ

**Вступ.** Поєднання цукрового діабету 2-го типу (ЦД2) і запальних захворювань органів малого тазу створює складний клінічний контекст, у якому перехресні взаємодії метаболічних (інсулінорезистентність, гіперглікемія), імунних (хронічне системне запалення) та ендокринних (строку регуляції гонадотропної та стероїдної осі) процесів можуть призводити до стійких гормональних порушень у жінок репродуктивного віку.

**Мета дослідження** – проаналізувати гормональний статус безплідних жінок із хронічним сальпінгооофоритом у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу.

**Методи дослідження.** У дослідженні було проведено аналіз медичної документації та обстеження 53 безплідних жінок репродуктивного віку, хворих на хронічний сальпінгооофорит (ХрСО), ЦД2 та їх поєднання, що перебували на стаціонарному лікуванні в КНП «Тернопільська комунальна міська лікарня № 2». Пацієнтів поділили на три групи: 1-ша – пацієнти з діагностованим ХрСО; 2-га – пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу, 3-тя – пацієнти з поєднаним перебігом ХрСО та ЦД2. Рівень гормонів репродуктивної системи визначали на автоматичному аналізаторі Cobas e 411.

**Результати й обговорення.** У безплідних жінок із цукровим діабетом 2-го типу та поєднанням цукрового діабету 2-го типу із хронічним сальпінгооофоритом спостерігається суттєвий гормональний дисбаланс стосовно групи з ізольованим хронічним сальпінгооофоритом, зокрема значне підвищення рівнів ФСГ, ЛГ та тестостерону, виражене зниження естрадіолу та прогестерону, а також зменшення співвідношення ЛГ / ФСГ, що відображає комбінацію гіпоестрогенії, гіпопрогестеронемії та гіперандрогенії на тлі метаболічних порушень.

**Висновки.** Встановлений гормональний дисбаланс у безплідних жінок із коморбідністю цукрового діабету 2-го типу та хронічного сальпінгооофориту свідчить про поєднання зниження оваріальної функції та відносної гіперандрогенії у пацієнток з діабетом, що посилюється на фоні запальних захворювань органів малого тазу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: безпліддя; цукровий діабет; запальні захворювання органів малого тазу; гормони репродуктивної системи; коморбідність.

ВСТУП. Запальні захворювання органів малого тазу (ЗЗОМТ) є однією з провідних причин гінекологічної патології, що супроводжується високим рівнем репродуктивних ускладнень, включно з безпліддям, позаматковою вагітністю та хронічним тазовим болем [1]. У патогенезі ЗЗОМТ ключову роль відіграють інфекційні агенти, порушення імунної відповіді та дисбаланс гормональної регуляції. Відомо, що нормальне функціонування репродуктивної системи жінки тісно пов'язане з інтегрованою дією ендокринних, метаболічних та імунних факторів [2].

Цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) розглядається не лише як метаболічне, але і як системне захворювання, що супроводжується хронічним низькорівневим запаленням, інсулінорезистентністю й ендотеліальною дисфункцією [3]. У жінок із ЦД2 значно

частіше діагностуються дисфункції менструального циклу, ановуляція, гіперандрогенія та інші ендокринні порушення, що можуть посилювати ризик розвитку та хронізації інфекційно-запальних процесів статевих органів [4].

Поєднання цукрового діабету 2-го типу (ЦД2) і запальних захворювань органів малого тазу (ЗЗОМТ) створює складний клінічний контекст, у якому перехресні взаємодії метаболічних (інсулінорезистентність, гіперглікемія), імунних (хронічне системне запалення) та ендокринних (строку регуляції гонадотропної та стероїдної осі) процесів можуть призводити до стійких гормональних порушень у жінок репродуктивного віку. Ці порушення мають значення для оваріальної функції, менструальної регуляції, фертильності та перебігу супутніх гінекологічних патологій [5].

Таким чином, актуальним є вивчення особливостей гормональних змін у жінок із

ЗЗОМТ на тлі ЦД2 з метою кращого розуміння механізмів патогенезу, оптимізації діагностики та пошуку нових терапевтичних стратегій.

**Мета нашого дослідження** – проаналізувати гормональний статус безплідних жінок із хронічним сальпінгоофоритом у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідженні було проведено аналіз медичної документації та обстеження 53 безплідних жінок репродуктивного віку (не могли зачати дитину понад 1 рік), хворих на хронічний сальпінгоофорит (ХрСО), ЦД2 та їх поєднання, що перебували на стаціонарному лікуванні в КНП «Тернопільська комунальна міська лікарня № 2». Пацієнтів поділили на три групи: 1-ша ( $n = 24$ ) – пацієнти з діагностованим ХрСО; 2-га ( $n = 11$ ) – пацієнти з цукровим діабетом 2-го типу, 3-тя ( $n = 18$ ) – пацієнти з поєднаним перебігом ХрСО та ЦД2.

Діагноз хронічного сальпінгоофориту ставили на основі Стандарту медичної допомоги «Запальні захворювання органів малого таза» (2023) [6].

Діагноз ЦД2 типу було встановлено згідно з рекомендаціями Американської асоціації діабету. Діагностичним критерієм слугував глікозильований гемоглобін  $\geq 6,5\%$  [7].

Лабораторні методи дослідження проводились у лабораторії КНП «Тернопільська комунальна міська лікарня № 2». Рівень гормонів репродуктивної системи визначали на імунохімічному електрохемілюмінесцентному аналізаторі Cobas e 411 (виробник Roche Diagnostics, Швейцарія). Для оцінки гормонального статусу пацієнок проводили аналіз сироватки крові на базальний рівень пролактину (мкг/л), лютеїнізуючого (ЛГ, МО/л), фолікулостимулювального (ФСГ, МО/л) гормонів, їх співвідношення, естрадіолу (пг/мл), загального тестостерону (нмоль/мл) та прогестерону (нг/мл) на 21–22-й день менструального циклу. Усі гормони досліджувалися за допомогою стандартних тест-систем, при цьому кожен зразок аналізувався двічі. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням комп'ютерної програми STATISTICA 10.0. Абсолютні показники представлено у вигляді середнього значення (Mean) та його стандартного відхилення (SD). Порівняльний аналіз абсолютних показників здійснено з використанням параметричного тесту ANOVA. Частотні характеристики досліджуваних показників описували як абсолютне значення ( $n$ ) і відсоткову кількість (%). Порівняння відносних значень, які були

представлені у вигляді відсоткового співвідношення, здійснено за критерієм Пірсона.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** За результатами порівняння гормонального статусу в жінок із ХрСО, ЦД2 та їх поєднанням виявлено суттєві відмінності (табл. 1). Рівень фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) у пацієнок із ЦД2 та ХрСО + ЦД2 був статистично значно вищим порівняно з жінками з ізольованим ХрСО, відповідно на 88,8 та 89,6 % ( $p < 0,001$ ), що може вказувати на виснаження оваріального резерву в умовах метаболічних порушень. Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) також демонстрував підвищення у групах із ЦД2 та комбінованою патологією проти даних у групі з ХрСО, відповідно на 37,8 та 38,9 % ( $p < 0,001$ ). При цьому співвідношення ЛГ / ФСГ було знижене у пацієнок із ЦД2 (на 15,5 %) та ХрСО + ЦД2 (на 17,1 %) ( $p < 0,001$ ) стосовно даних у групі з ХрСО, що свідчить про дисбаланс гонадотропної регуляції. Показники пролактину не мали статистично значущих відмінностей між досліджуваними групами ( $p = 0,219$ ), що свідчить про відсутність прямої залежності цього гормону від наявності ЦД2 чи хронічного запального процесу. Концентрація естрадіолу була істотно нижчою у жінок із ЦД2 та поєднаною патологією в середньому на 39,4 % порівняно з ХрСО ( $p < 0,001$ ), що може вказувати на гіпоестрогенемію як наслідок інсулінорезистентності та хронічного запалення. Рівень прогестерону також знижувався в обох групах із ЦД2 (на 41,4 %) та коморбідністю ХрСО + ЦД2 (на 37,9 %) проти значень із ХрСО ( $p < 0,001$ ), що потенційно відображає порушення лютеїнової фази циклу та формування недостатності жовтого тіла. Натомість концентрація тестостерону була суттєво підвищеною у жінок із ЦД2 та ХрСО + ЦД2 в середньому на 83,8 % порівняно з ХрСО ( $p < 0,001$ ), що свідчить про наявність гіперандрогенії, типової для метаболічних порушень.

Встановлено, що ЗЗОМТ асоціюються зі зниженням оваріального резерву та порушенням трубної функції, що опосередковано впливає на гормональні показники і фертильність. Отримані результати, де за коморбідності ХрСО та з ЦД2 посилюються гормональні зрушення, збігаються з науковими даними, що ЗЗОМТ може обтяжувати репродуктивну функцію і в поєднанні з метаболічними розладами призводити до більш вираженого гормонального дисбалансу [8]. Отримане підвищення гонадотропінів (особливо ФСГ) за наявності ЦД2 та комбінованої патології узгоджується з уявленням про порушення функції оваріального резерву та

Таблиця 1 – Гормональний статус у жінок досліджуваних груп

Гормон	ХрСО	ЦД 2-го типу	ХрСО + ЦД 2-го типу	H, p	p < 0,05*
ФСГ	6,25 (6,00; 7,40)	11,80 (10,60; 12,10)	11,85 (11,70; 12,10)	H = 31,86; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>
ЛГ	9,00 (7,75; 9,70)	12,40 (11,10; 12,90)	12,50 (11,60; 12,90)	H = 14,08; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>
ЛГ/ФСГ	1,29 (1,15; 1,53)	1,09 (1,02; 1,15)	1,07 (1,02; 1,10)	H = 15,76; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>
Пролактин	12,50 (11,50; 13,10)	12,90 (12,80; 13,60)	12,90 (12,80; 13,60)	H = 3,04; p = 0,219	–
Естрадіол	33,33 (30,32; 38,10)	20,20 (18,70; 21,30)	20,20 (19,40; 21,20)	H = 38,81; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>
Прогестерон	2,90 (2,60; 3,05)	1,70 (1,40; 1,90)	1,80 (1,60; 1,90)	H = 39,18; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>
Тестостерон	1,85 (1,65; 2,15)	3,40 (3,00; 3,80)	3,40 (3,00; 4,10)	H = 37,02; p < 0,001*	p <sub>1-2</sub> , p <sub>1-3</sub>

Примітка: \* – статистично вірогідні результати.

дисрегуляцію гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової (ГГЯ) осі в умовах метаболічного стресу. Хронічна гіперглікемія, інсулінорезистентність і системне запалення можуть пошкоджувати оваріальний пул і знижувати ендокринну функцію яєчників, що супроводжується компенсаторним підвищенням гонадотропінів (особливо ФСГ) [9; 10]. Зниження естрадіолу і прогестерону в групах із ЦД2 відповідає даним про те, що інсулінорезистентність і хронічне запалення впливають на стероїдогенез у гранульозних клітинах та на функцію жовтого тіла [11]. Менший продукційний потенціал яєчників за метаболічних станів, а також можливі ушкодження оваріальної тканини в поєднанні з локальним тазовим запаленням пояснюють гіпоестрогенію та гіпопрогестеронемію в отриманих даних [12]. Суттєве підвищення тестостерону в пацієнок із ЦД2 та ХрСО + ЦД2 узгоджується із широко описаною асоціацією між інсулінорезистентністю і гіперандрогенемією. Гіперінсулінемія прямо стимулює оваріальні клітини до підвищеної андрогенопродукції і знижує рівні глобуліну, що зв'язує статеві гормони, – усе це призводить до підвищення доступного тестостерону. Крім того, емпіричні дослідження показують, що підвищені ендогенні рівні тестостерону пов'язані зі збільшеним ризиком розвитку ЦД2 у жінок, що

підсилює двосторонній зв'язок між метаболізмом і андрогенами [13].

Отже, встановлений гормональний дисбаланс у безплідних жінок із коморбідністю ХрСО та ЦД2 свідчить про поєднання зниження оваріальної функції та відносної гіперандрогенії у пацієнок із ЦД2, що посилюється на тлі ХрСО. Це обґрунтовує потребу в розширеному ендокринному скринінгу в жінок репродуктивного віку з ЦД2 і/або рецидивуючими ЗЗОМТ; інтегрованому підході для корекції метаболічних і запальних складових; оцінці впливу на гормональний профіль і репродуктивні кінцеві точки засобів корекції.

**ВИСНОВКИ.** У безплідних жінок із цукровим діабетом 2-го типу та поєднанням цукрового діабету 2-го типу із хронічним сальпінгоофоритом спостерігається суттєвий гормональний дисбаланс стосовно групи з ізольованим хронічним сальпінгоофоритом, зокрема значне підвищення рівнів ФСГ, ЛГ та тестостерону, виражене зниження естрадіолу та прогестерону, а також зменшення співвідношення ЛГ / ФСГ, що відображає комбінацію гіпоестрогенії, гіпопрогестеронемії та гіперандрогенії на тлі метаболічних порушень.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Workowski K. A., Bachmann L. H., Chan P. A. [et al.]. Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recommendations and Reports*. 2021. Vol. 70, No. 4. P. 1–187. DOI: 10.15585/mmwr.rr7004a1
2. Ali A. T., Hofmeyr G. J., Naidoo T. D. Endocrine and metabolic aspects of female reproductive health. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics &*

*Gynaecology*. 2019. Vol. 60. P. 3–15. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2019.06.004

3. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes – 2022. *Diabetes Care*. 2022. Vol. 45, Suppl. 1. P. S17–S38. DOI: 10.2337/dc22-S002

4. Goodarzi M. O., Dumesic D. A., Chazenbalk G., Azziz R. Polycystic ovary syndrome: Etiology,

pathogenesis and diagnosis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2011. Vol. 7, No. 4. P. 219–231. DOI: 10.1038/nrendo.2010.217

5. Joung K. H., Jeong J. W., Ku B. J. The association between type 2 diabetes mellitus and women cancer: the epidemiological evidences and putative mechanisms. *Biomed Res Int*. 2015. P. 920618. DOI: 10.1155/2015/920618

6. Стандарти медичної допомоги : наказ МОЗ України № 928 від 18.05.2023. Київ, 2023. URL: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2023/05/smd\\_928\\_18052023.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2023/05/smd_928_18052023.pdf) (дата звернення: 05.10.2025)

7. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2019 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes*. 2019. Vol. 37, No. 1. P. 11–34.

8. Cui L., Sheng Y., Sun M. [et al.]. Chronic Pelvic Inflammation Diminished Ovarian Reserve as Indicated by Serum Anti Mьllerian Hormone. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, No. 6. P. e0156130. DOI: 10.1371/journal.pone.0156130

9. Zhao H., Zhang J., Cheng X. [et al.]. Insulin resistance in polycystic ovary syndrome across various tissues: an updated review of pathogenesis, evaluation,

and treatment. *J Ovarian Res*. 2023. Vol. 16, No. 1. P. 9. DOI: 10.1186/s13048-022-01091-0

10. Cheng C. G., Su S. H., Chien W. C. [et al.]. Diabetes Mellitus and Gynecological and Inflammation Disorders Increased the Risk of Pregnancy Loss in a Population Study. *Life (Basel)*. 2024. Vol. 14, No. 7. P. 903. DOI: 10.3390/life14070903

11. Diamanti-Kandarakis E., Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocrine Reviews*. 2012. Vol. 33, No. 6. P. 981–1030. DOI: 10.1210/er.2011-1034

12. Cao Z., Zhou Q., An, J. [et al.]. Glycolytic Dysfunction in Granulosa Cells and Its Contribution to Metabolic Dysfunction in Polycystic Ovary Syndrome. *Drug Des Devel Ther*. 2025. Vol. 19. P. 5255–5270. DOI: 10.2147/DDDT.S525651

13. Baptiste C. G., Battista M. C., Trottier A., Baillargeon J. P. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010. Vol. 122, No. 1–3. P. 42–52. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2009.12.010-

#### REFERENCES

1. Workowski, K. A., Bachmann, L. H., Chan, P. A., et al. (2021). Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recommendations and Reports*, 70 (4), 1–187. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr7004a1>

2. Ali, A. T., Hofmeyr, G. J., & Naidoo, T. D. (2019). Endocrine and metabolic aspects of female reproductive health. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 60, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.06.004>

3. American Diabetes Association (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes – 2022. *Diabetes Care*, 45 (Supplement 1), S17–S38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>

4. Goodarzi, M. O., Dumesic, D. A., Chazenbalk, G., & Azziz, R. (2011). Polycystic ovary syndrome: Etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(4), 219–231. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.217>

5. Joung, K. H., Jeong, J. W., & Ku, B. J. (2015). The association between type 2 diabetes mellitus and women cancer: the epidemiological evidences and putative mechanisms. *BiomedResInt*, 2015, 920618. <https://doi.org/10.1155/2015/920618>

6. Ministerstvo Okhorony Zdorovia Ukrainy (2023). Standarty medychnoi dopomohy: nakaz MOZ Ukrainy № 928 vid 18.05.2023 [Standards of Medical Care: Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 928 dated 18.05.2023]. Kyiv. Retrieved from: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2023/05/smd\\_928\\_18052023.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2023/05/smd_928_18052023.pdf) [in Ukrainian].

7. American Diabetes Association (2019). Standards of Medical Care in Diabetes-2019 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes*, 37(1), 11–34.

Адреса для листування: [marushchak@tdmu.edu.ua](mailto:marushchak@tdmu.edu.ua)

8. Cui, L., Sheng, Y., Sun, M., Hu, J., Qin, Y., & Chen, Z. J. (2016). Chronic Pelvic Inflammation Diminished Ovarian Reserve as Indicated by Serum Anti Mьllerian Hormone. *PLoS One*, 11 (6), e0156130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156130>

9. Zhao, H., Zhang, J., Cheng, X., Zhang, H., Liu, S., Shi, Z., Zhang, J., & Li, R. (2023). Insulin resistance in polycystic ovary syndrome across various tissues: an updated review of pathogenesis, evaluation, and treatment. *J Ovarian Res*, 16 (1), 9. <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01091-0>

10. Cheng, C. G., Su, S. H., Chien, W. C., Chen, R., Chung, C. H., & Cheng, C. A. (2024). Diabetes Mellitus and Gynecological and Inflammation Disorders Increased the Risk of Pregnancy Loss in a Population Study. *Life (Basel)*, 14(7), 903. <https://doi.org/10.3390/life14070903>

11. Diamanti-Kandarakis, E., & Dunaif, A. (2012). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications. *Endocrine Reviews*, 33(6), 981–1030. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1034>

12. Cao, Z., Zhou, Q., An, J., Guo, X., Jia, X., & Qiu, Y. (2025). Glycolytic Dysfunction in Granulosa Cells and Its Contribution to Metabolic Dysfunction in Polycystic Ovary Syndrome. *Drug Des Devel Ther*, 19, 5255–5270. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S525651>

13. Baptiste, C. G., Battista, M. C., Trottier, A., & Baillargeon, J. P. (2010). Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 122(1–3), 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.12.010>

## HORMONAL DISORDERS IN WOMEN WITH INFERTILITY AND PELVIC INFLAMMATORY DISEASES AGAINST THE BACKGROUND OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS

### Summary

**Introduction.** The combination of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and pelvic inflammatory diseases creates a complex clinical context in which cross-interactions between metabolic (insulin resistance, hyperglycaemia), immune (chronic systemic inflammation) and endocrine (gonadotropic and steroid axis regulation) processes can lead to persistent hormonal disorders in women of reproductive age.

**The aim of the study** – to analyse the hormonal status of infertile women with chronic salpingo-oophoritis combined with type 2 diabetes mellitus.

**Research Methods.** The study involved an analysis of medical records and examination of 53 infertile women of reproductive age with chronic salpingo-oophoritis (ChrSO), T2DM and their combination, who were undergoing inpatient treatment at the Ternopil Municipal Hospital No. 2. Patients were divided into three groups: 1st – patients diagnosed with ChrSO; 2nd – patients with type 2 diabetes mellitus; 3rd – patients with combined ChrSO and T2DM. The level of reproductive system hormones was determined using a Cobas e 411 automatic analyser.

**Results and Discussion.** In infertile women with T2DM and a combination of T2DM and ChrSO, a significant hormonal imbalance is observed compared to the group with isolated chronic salpingo-oophoritis, in particular, a significant increase in FSH, LH and testosterone, a marked decrease in oestradiol and progesterone, and a decrease in the LH/FSH ratio, reflecting a combination of hypoestrogenism, hypoprogesteronemia and hyperandrogenism against a background of metabolic disorders.

**Conclusions.** The established hormonal imbalance in infertile women with comorbid type 2 diabetes mellitus and chronic salpingo-oophoritis indicates a combination of decreased ovarian function and relative hyperandrogenism in patients with diabetes, which is exacerbated by inflammatory diseases of the pelvic organs.

**KEY WORDS:** infertility; diabetes mellitus; pelvic inflammatory diseases; reproductive system hormones; comorbidity.

Стаття надійшла до редакції 13.09.2025  
Стаття прийнята 30.09.2025  
Статтю опубліковано 24.10.2025



Р. Д. Левчук

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## ВПЛИВ ГОСТРОЇ КРОВОВТРАТИ НА ДИНАМІКУ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У СЕРЦІ ЩУРІВ ІЗ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЮ ТРАВМОЮ, ТУПОЮ ТРАВМОЮ ЖИВОТА ТА СКЕЛЕТНОЮ ТРАВМОЮ

**Вступ.** У сучасних умовах відмічають зростання загального травматизму. Значна втрата крові та механічне пошкодження тканин створюють передумови для активації процесів вільнорадикального окиснення як у зоні ураження, так і у віддалених тканинах та органах. Однак вплив гострої крововтрати на розвиток вільнорадикальних процесів у серці за умов різних за локалізацією травм практично не досліджений.

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив гострої крововтрати на динаміку пероксидного окиснення ліпідів у серці щурів із черепно-мозковою травмою (ЧМТ), тупою травмою живота (ТТЖ) та скелетною травмою (СКТ).

**Методи дослідження.** Експерименти проведено на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар. В умовах тіопентало-натрієвого наркозу в щурів моделювали ЧМТ, ТТЖ та СКТ, стандартизовані за величиною летальності. В окремих групах щурів додатково моделювали гостру крововтрату в обсязі 1,5 % від маси тіла. Щурів виводили з експерименту через 3, 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду. В екстракті гомогенату серця визначали вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти (ТБК-активних продуктів ПОЛ).

**Результати й обговорення.** Моделювані ЧМТ, ТТЖ і СКТ, починаючи з 14-ї доби посттравматичного періоду, супроводжувалися активізацією процесів ПОЛ у серці, яка до 28-ї доби не досягала рівня контролю. Найбільше накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці відмічали на тлі ТТЖ порівняно з іншими дослідними групами. Ускладнення модельованих травм гострою крововтратою викликало поглиблення метаболічних порушень у серці, починаючи з раннього посттравматичного періоду, яка через 7, 14 та 21 доби переважала в щурів з ТТЖ. Порівняно з травмованими щурами без крововтрати в щурів із ЧМТ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ ставав істотно більшим через 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду, у щурів з ТТЖ – через 7 та 14 діб, у щурів з СКТ – через 3 і 7 діб.

**Висновки.** Гостра крововтрата суттєво поглиблює тяжкість метаболічних порушень у серці за умов механічної травми різної локалізації, що виявляють збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ, який суттєво переважає у щурів з ТТЖ порівняно з травмами іншої локалізації.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** черепно-мозкова травма; тупа травма живота; скелетна травма; гостра крововтрата; нирка; ліпідна пероксидація.

ВСТУП. У сучасних умовах відмічають зростання частоти надзвичайних ситуацій мирного і воєнного часу, що сприяє зростанню загального травматизму. У його структурі переважають поранені з множинними та поєднаними ушкодженнями [1]. Встановлено, що такі травми часто ускладнюються гострою крововтратою, яка істотно збільшує ризик смертності в гострий період травматичної хвороби та потребує заходів хірургічного контролю травми й боротьби з геморагічним шоком [2].

Характерною ознакою гострої крововтрати є зниження доставки кисню до тканин для забезпечення аеробного метаболізму [3]. Це активізує механізми анаеробного

метаболізму, сприяє накопиченню у клітинах молочної кислоти, неорганічних фосфатів і радикалів оксигену. Компенсаторне звуження судин, яке виникає після гострої крововтрати, посилює гіперперфузію та гіпоксію внутрішніх органів, що поглиблює їх вторинне пошкодження та розвиток поліорганної недостатності. Існує думка, що ключовим патогенним чинником вторинного ураження є ініціація вільнорадикальних процесів із посиленням окиснення ліпідів і білків клітинних мембран [4; 5].

За умов механічної травми локальне пошкодження тканин, розвиток набряку, ішемії теж створюють передумови для генерації активних форм оксигену з подальшим посиленням процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і ураженням клітинних

мембран, що замикає чергове «хибне» патологічне коло та поглиблює локальне пошкодження тканин, яке за неадекватного лікування здатне викликати порушення на системному рівні. Існують експериментальні дані, які свідчать про посилення процесів ПОЛ у внутрішніх органах, віддалених від місця безпосереднього ураження, за умов черепно-мозкової травми (ЧМТ), скелетної травми (СКТ) [6], тупої травми живота (ТТЖ) [7] та травми грудної клітки [8].

Однак вплив гострої крововтрати на розвиток вільнорадикальних процесів у серці за умов різних за локалізацією травм практично не вивчений.

Існують лише поодинокі дослідження щодо вторинного ураження серця за умов травми чи гострої крововтрати. Зокрема, за умов ЧМТ відмічали порушення електричної активності, появу біомаркерів серцевого ураження та дисфункцію лівого шлуночка [9; 10]. ЧМТ легкого та помірного ступеня тяжкості створювала значно вищий ризик серцево-судинних захворювань у віддалений посттравматичний період порівняно з контрольними групами відповідних віку, раси та статі [11]. За умов СКТ та гострої крововтрати через 7 діб посттравматичного періоду відмічали виражені дистрофічні зміни волокон міокарда [12]. Під впливом краніоскелетної травми в щурів різної статі порівняно з контролем встановлено зростання інтенсивності процесів ліпідної пероксидації в серці, що виявляли статистично значущим зростанням вмісту дієнових кон'югатів та реагентів до тіобарбітурової кислоти (ТБК-активних продуктів ПОЛ) з максимумом через 3 доби посттравматичного періоду [13].

**Мета дослідження** – з'ясувати вплив гострої крововтрати на динаміку процесів ПОЛ у серці щурів з ЧМТ, ТТЖ та СКТ.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для експериментів випадковим методом із віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України відібрали 316 статевозрілих білих щурів-самців лінії Вістар масою 200–220 г. Усіх щурів розподілили на сім груп: контрольну та шість дослідних. В умовах тіопентало-натрієвого наркозу ( $40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ ) у дослідній групі 1 моделювали ЧМТ, у дослідній групі 2 – ТТЖ, у дослідній групі 3 – СКТ, які стандартизувалися за величиною летальності [14].

Для моделювання ЧМТ щурам однократно наносили дозований удар по черепу

з енергією 0,375 Дж [15]. Для моделювання ТТЖ щурам однократно наносили дозований удар в епігастральну ділянку пристроєм діаметром 2,5 см з енергією  $0,177 \text{ Дж} \cdot \text{см}^{-2}$  [16]. Для моделювання СКТ щурам однократно наносили дозований механічний удар по кожному стегну пристроєм із клиновидною насадкою та енергією 0,637 Дж, який викликав закритий перелом обох стегон [16].

У дослідних групах 4, 5 та 6 у щурів відповідно із ЧМТ, ТТЖ та СКТ додатково викликали гостру крововтрату в об'ємі 1,5 % від маси тіла шляхом пересікання стегнової вени. Об'єм крововтрати визначали гравіметричним методом.

Через 3, 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду в умовах наркозу щурів кожної з дослідних груп виводили з експерименту методом тотального кровопускання із серця. Для дослідження брали шматочки серця, який охолоджували, відмивали від крові та гомогенізували в гомогенізаторі Silent Crasher 75000 (Німеччина). В екстракті 10 % гомогенату серця з використанням спектрофотометра LabAnalyt SP-V1000 (Granum, Китай) визначали вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти, які належать до стабільних метаболітів ПОЛ [17]. Щурів контрольної групи тільки вводили в наркоз і виводили з експерименту в аналогічних умовах через 14 діб.

Усі експерименти виконували з дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які були ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та узгоджені з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Для статистичного аналізу одержаних результатів використовували програмний пакет STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США), серійний номер диска BXXR303F737429FA-8. Визначали медіану (Me), нижній і верхній квартилі (LQ, UQ), які представлені в таблицях. Також розраховували відсоток медіани показника дослідних груп до медіани контролю, що представлено на рисунках. Вірогідність відмінностей оцінювали за непараметричним критерієм Манна – Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як видно з табл. 1 і рис. 1 під впливом ЧМТ через 3 і 7 діб посттравматичного періоду вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці порівняно з контролем суттєво не змінювався ( $p > 0,05$ ). Через 14 діб відмічали зростання

показника – на 42,9 % порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), що виявилось статистично вірогідно більшим і порівняно з результатами через 3 і 7 діб посттравматичного періоду (відповідно на 48,7 та 37,8 %,  $p < 0,05$ ). У подальшому показник знижувався й через 28 діб посттравматичного періоду став меншим порівняно з результатом 14-ї доби на 17,0 % ( $p < 0,05$ ). У цей термін показник залишався істотно більшим, ніж у контролі (на 18,5 %,  $p < 0,05$ ) та порівняно

з результатом через 3 і 7 діб посттравматичного періоду (на 23,4 та 14,4 %,  $p < 0,05$ ).

Після моделювання ТТЖ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ теж протягом 3–7 діб посттравматичного періоду істотно не відрізнявся від контролю ( $p > 0,05$ ). Через 14 діб показник різко зростає і стає на 72,6 % більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), та на 70,6 і 64,6 % більшим порівняно з результатом через 3 і 7 діб посттравматичного періоду ( $p < 0,05$ ). Через 21 добу посттравматичного

Таблиця 1 – Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці після моделювання черепно-мозкової травми, тупої травми живота та скелетної травми (Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Група щурів	Термін обстеження				
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
Контроль	3,29 (3,26; 3,59)				
Дослідна група 1 ЧМТ	3,16 3,00; 3,46	3,41 3,33; 3,52	4,70* 4,60; 4,98	4,22* 4,12; 4,36	3,90* 3,60; 3,98
Дослідна група 2 ТТЖ	3,33 3,14; 3,56	3,45 3,28; 3,55	5,68* 5,44; 5,80	4,63* 4,58; 4,97	4,57* 4,08; 4,70
Дослідна група 3 СКТ	3,52 3,44; 3,60	3,56 3,37; 3,64	4,68* 4,55; 4,84	4,25* 4,14; 4,52	3,80* 3,65; 4,16
$p_{1-2}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
$p_{1-3}$	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
$p_{2-3}$	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	0,05

Примітки: \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні ( $p < 0,05$ );  $p_{1-2}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 1 і 2;  $p_{1-3}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 1 і 3;  $p_{2-3}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 2 і 3.

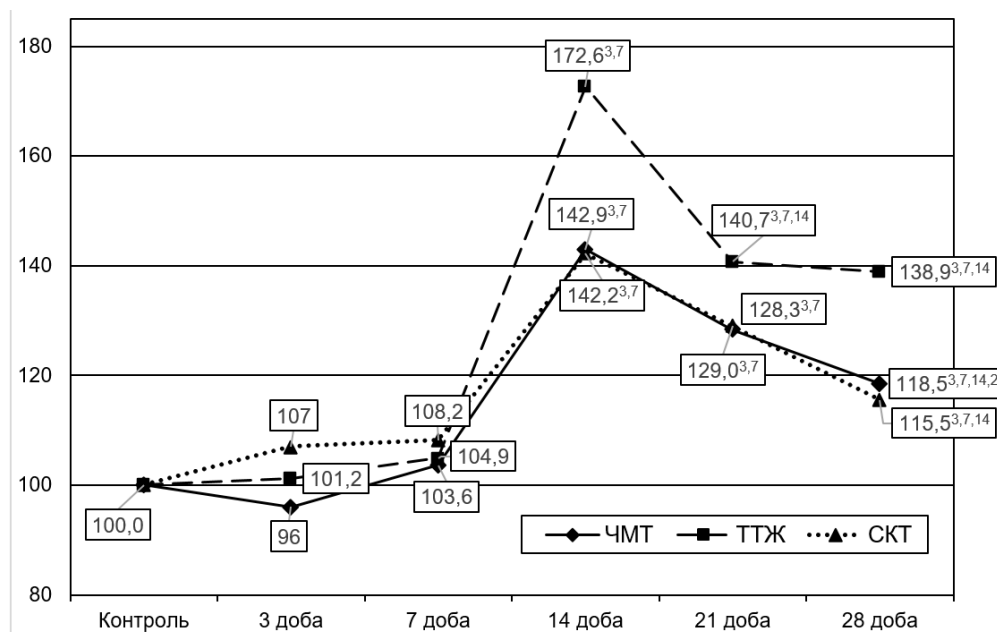


Рис. 1. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці (у відсотках до рівня контрольної групи) після моделювання черепно-мозкової травми, тупої травми живота та скелетної травми

Примітка. Тут і на рис. 2: <sup>3, 7, 14, 21</sup> – відмінності стосовно результату через 3, 7, 14 та 21 доби посттравматичного періоду статистично вірогідні ( $p < 0,05$ ).

періоду показник зменшувався на 18,5 % ( $p < 0,05$ ), до закінчення експерименту залишався на такому ж рівні ( $p > 0,05$ ), проте продовжував залишатися на 38,9 % більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ).

Після моделювання СКТ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці протягом 3–7 днів посттравматичного періоду суттєво не відрізнявся порівняно з контролем ( $p > 0,05$ ). Через 14 днів показник зростав і ставав на 42,2 % більшим, ніж у контролі та порівняно з попередніми термінами спостереження (відповідно на 33,0 і 31,5 %,  $p < 0,05$ ). У подальшому показник поступово знижувався і через 28 днів посттравматичного періоду ставав на 18,8 % меншим порівняно з результатом 14-ї доби посттравматичного періоду ( $p < 0,05$ ), проте залишався на 15,5 % більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ).

Порівняння дослідних груп показало, що через 3 і 7 днів посттравматичного періоду відмінності величини ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці були статистично не вірогідними ( $p_{1-2} > 0,05$ ,  $p_{1-3} > 0,05$ ,  $p_{2-3} > 0,05$ ). Починаючи з 14-ї доби експерименту, показник ставав суттєво більшим у групі щурів із ТТЖ. У цей термін показник перевищував дослідну групу щурів із ЧМТ на 20,8 % ( $p_{1-2} < 0,05$ ), дослідну групу щурів із СКТ – на 21,4 % ( $p_{2-3} < 0,05$ ), через 21 добу – відповідно на 9,7 % ( $p_{1-2} < 0,05$ ) та на 8,9 % ( $p_{2-3} < 0,05$ ). Через 28 днів показник у групі щурів із ТТЖ був більшим порівняно з дослідною групою щурів із ЧМТ на 17,2 % ( $p_{1-2} < 0,05$ ), проте суттєво не відрізнявся порівняно з дослідною групою щурів із СКТ ( $p_{2-3} > 0,05$ ). Звертає

на себе увагу той факт, що статистично значущих відмінностей між дослідними групами щурів із ЧМТ і СКТ не відмічали ( $p_{1-3} > 0,05$ ).

Додаткова гостра крововтрата в об'ємі 1,5 % від маси тіла суттєво поглиблювала порушення вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці, що відмічали вже з перших днів посттравматичного періоду (табл. 2, рис. 2). За умов ЧМТ показник ставав більшим від контролю через 7 днів посттравматичного періоду на 37,7 % і на 33,2 % перевищував результат 3-ї доби ( $p < 0,05$ ). Через 14 днів експерименту показник досягав максимуму і на 66,4 % перевищував рівень контролю ( $p < 0,05$ ) та відповідно на 61,2 і 21,0 % результати попередніх термінів спостереження ( $p < 0,05$ ). Далі, до 21-ї доби показник знижувався (на 14,0 % порівняно з результатом 14-ї доби,  $p < 0,05$ ) і залишався на такому ж рівні до 28-ї доби ( $p > 0,05$ ). У цей термін показник перевищував контроль на 44,2 % ( $p < 0,05$ ).

Після моделювання ТТЖ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці теж із 7-ї доби посттравматичного періоду порівняно з контролем суттєво зростав (на 31,2 %,  $p < 0,05$ ) і був на 20,7 % більшим порівняно з результатом 1-ї доби ( $p < 0,05$ ). Через 14 днів посттравматичного періоду показник досягав максимуму і на 92,2 % ставав більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ), та відповідно на 76,8 та 46,5 % перевищував результати попередніх термінів спостереження ( $p < 0,05$ ). У подальшому показник поступово знижувався і через 28 днів ставав меншим порівняно з результатом 14-ї доби на 22,4 % ( $p < 0,05$ ), проте був більшим, ніж у контролі на 49,2 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2 – Вплив гострої крововтрати на вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці після моделювання черепно-мозкової травми, тупої травми живота та скелетної травми ((Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній кuartилі))

Група щурів	Термін обстеження				
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
Контроль	3,29 (3,26; 3,59)				
Група 4 ЧМТ + крововтрата	3,40	4,53 <sup>#</sup>	5,48 <sup>#</sup>	4,71 <sup>#</sup>	4,75 <sup>#</sup>
Група 5 ТТЖ + крововтрата	3,13; 3,48	4,45; 4,65	5,25; 5,60	4,54; 5,18	4,48; 4,83
Група 6 СКТ + крововтрата	3,58	4,32 <sup>#</sup>	6,33 <sup>#</sup>	5,44 <sup>*</sup>	4,91 <sup>#</sup>
	3,41; 3,62	4,28; 4,47	6,23; 6,52	4,89; 5,67	4,72; 5,19
	3,89 <sup>#</sup>	4,11 <sup>#</sup>	4,94 <sup>*</sup>	4,56 <sup>*</sup>	4,43 <sup>*</sup>
	3,69; 4,00	3,98; 4,24	4,78; 5,07	4,48; 4,65	4,16; 4,76
$p_{4-5}$	>0,05	>0,05	< 0,05	>0,05	>0,05
$p_{4-6}$	<0,05	<0,05	< 0,05	>0,05	>0,05
$p_{5-6}$	<0,05	<0,05	< 0,05	<0,05	> 0,05

Примітки: \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні ( $p < 0,05$ ); # – відмінності стосовно травмованих щурів без гострої крововтрати статистично вірогідні ( $p < 0,05$ );  $p_{4-5}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 4 і 5;  $p_{4-6}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 4 і 6;  $p_{5-6}$  – вірогідність відмінностей між дослідними групами 5 і 6.

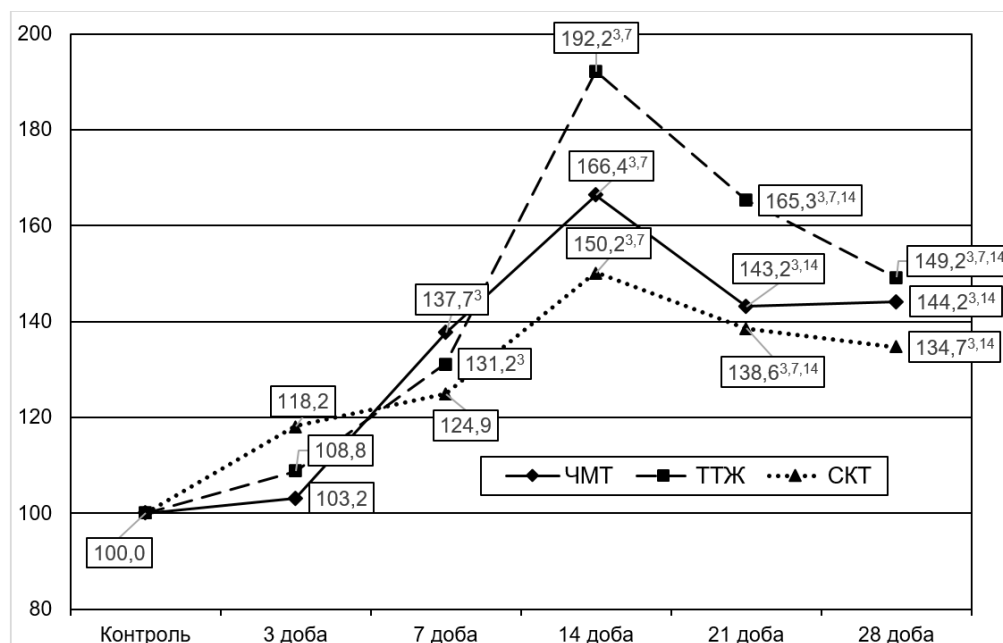


Рис. 2. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці (у відсотках до рівня контрольної групи) після моделювання черепно-мозкової травми, тупої травми живота та скелетної травми, ускладненої гострою крововтратою

За умов СКТ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ вже з 3-ї доби посттравматичного періоду порівняно з контролем зростає на 18,2 % ( $p < 0,05$ ) і залишався на такому ж рівні до 7-ї доби ( $p > 0,05$ ). Через 14 діб відмічали повторне зростання досліджуваного показника – на 50,2 % порівняно з контролем ( $p > 0,05$ ) на та 27,0 і 20,2 % порівняно з результатом попередніх термінів спостереження ( $p < 0,05$ ). До 21-ї доби показник знижувався – на 7,7 % порівняно з результатом 14-ї доби ( $p < 0,05$ ) і залишався на такому ж рівні до 28-ї доби ( $p > 0,05$ ). У цей термін показник на 34,7 % був більшим, ніж у контролі.

Порівняння дослідних груп показало, що через 3 доби посттравматичного періоду вміст у серці ТБК-активних продуктів ПОЛ був найбільшим у дослідній групі 6 порівняно з дослідними групами 4 і 5 (відповідно на 14,4 %,  $p_{4-6} < 0,05$ , та на 8,6 %,  $p_{5-6} < 0,05$ ). Через 7 діб посттравматичного періоду показник, навпаки, ставав істотно більшим у дослідних групах 4 і 5 порівняно з дослідною групою 6 ( $p_{4-6} < 0,05$ ,  $p_{5-6} < 0,05$ ). Аналогічну закономірність відмічали й через 14 діб посттравматичного періоду в період максимального зростання вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці. Через 21 добу показник продовжував залишатися суттєво більшим у дослідній групі 5 порівняно з дослідною групою 6 (на 19,3 %,  $p_{5-6} < 0,05$ ). Через 28 діб посттравматичного періоду відмінності між дослідними групами 4, 5 та 6

були статистично не значущими ( $p_{4-5} > 0,05$ ,  $p_{4-6} > 0,05$ ,  $p_{5-6} > 0,05$ ).

Порівняння дослідних груп травмованих щурів, яким наносили травми різної локалізації, з аналогічними групами, яким додатково викликали гостру крововтрату в об'ємі 1,5 % від маси тіла, показало, що в щурів із ЧМТ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ на тлі додаткової втрати крові ставав статистично вірогідно більшим через 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду (відповідно на 32,8, 16,6, 11,6 та 21,8 %,  $p < 0,05$ ). На тлі ТТБ і гострої крововтрати показник перевищував групу щурів із самою механічною травмою через 7, 14 і 28 діб посттравматичного періоду (відповідно на 25,2, 11,4 та 7,4 %,  $p < 0,05$ ), на тлі СКТ і гострої крововтрати – через 3 і 7 діб (відповідно на 10,5 та 15,4 %,  $p < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про те, що модельовані ЧМТ, ТТЖ і СКТ, починаючи з 14-ї доби посттравматичного періоду, супроводжуються активізацією процесів ПОЛ у серці, яка поступово стихає до 28-ї доби, проте не досягає рівня контролю. Така реакція у серці загалом відповідає концепції вторинного посилення ПОЛ у внутрішніх органах за умов тяжкої травми [18], причому посилення вільнорадикального окиснення в серці не залежало від локалізації механічної травми, що вказує на її загальнобіологічний характер і, ймовірно, залежить від тяжкості пошкодження [19; 20]. Важливо відмітити, що порівняно з реакцією

інших внутрішніх органів на модельовані травми, зокрема печінки [21], коли активізація процесів ПОЛ настає вже через 3 доби посттравматичного періоду, у серці посилення ліпідної пероксидації настає через 14 діб після нанесення травми, що свідчить про достатньо розвинену антиоксидантну систему міокарда, недостатність якої настає на піку метаболічних порушень у травмованому організмі. За цих умов найбільше накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ відмічають на тлі ТТЖ порівняно з іншими дослідними групами. Незважаючи на те що в гострий (шоковий) період травми протягом перших двох діб загибель щурів в усіх дослідних групах була практично однаковою [14], у пізній період травми на перший план, очевидно, виступають вторинні ураження внутрішніх органів. За умов ТТЖ – це кишки та печінка, які безпосередньо зазнали механічного пошкодження. Як свідчать дослідження окремих авторів, серед вторинних пошкоджень із боку органів черевної порожнини має місце розвиток ентеральної дисфункції з порушенням бар'єрної кишки, транслокацією мікрофлори і потужним ендотоксичним впливом на печінку [21; 22], у якій на тлі виражених дисметаболічних, дисфункціональних та дистрофічних порушень унаслідок травми живота [23] погіршується детоксикаційна функція, активізуються печінкові макрофаги з посиленням утворенням активних форм кисню, поглиблюється системна реакція організму на запалення, що не може не поглибити вторинне ураження інших органів, віддалених від місця травми. Саме ці механізми, ймовірно, зумовлюють і більш прооксидантні порушення в серці.

Ускладнення модельованих механічних травм гострою крововтратою супроводжується поглибленням метаболічних порушень у серці. Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ порівняно з контролем на тлі СКТ зростає вже з 3-ї доби експерименту, на тлі ЧМТ і ТТЖ – із 7-ї доби. Показники досягають максимуму теж через 14 діб експерименту, а далі до 28-ї доби знижуються, проте не досягають рівня контролю. Амплітуда порушень через 14–21 добу посттравматичного періоду є найбільшою у групі щурів з ТТЖ. Отже, гостра крововтрата прискорює і поглиблює порушення метаболічних процесів

в серці, що, очевидно, виникає внаслідок нашарування механізмів механічної травми і втрати крові та призводить до глибших метаболічних порушень в інших внутрішніх органах.

Додатковим підтвердженням цьому є і статистично вірогідно більший вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці щурів із ЧМТ, ускладненою гострою крововтратою, порівняно зі щурами, яким моделювали лише ЧМТ через 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду, у щурів з ТТЖ і гострою крововтратою – через 7 та 14 діб, у щурів із СКТ і гострою крововтратою – через 3 і 7 діб. Можна припустити, що для вторинних ускладнень із боку серця, зумовлених ЧМТ, гостра крововтрата відіграє основну патогенну роль, особливо в період ранніх і пізніх проявів травматичної хвороби. На тлі СКТ гостра крововтрата поглиблює вторинні ураження в початковий період травми, на тлі ТТЖ – у період маніфестації виявлених порушень.

Виявлені нами закономірності мають вагомим практичне значення для розуміння специфіки вторинного оксидантного ураження міокарда за умов механічної травми різної локалізації, ускладненої гострою крововтратою, та розробки персоналізованих стратегій інтенсивної терапії.

**ВИСНОВКИ.** 1. Моделювання ізольованої ЧМТ, ТТЖ та СКТ супроводжується вторинним оксидантним ураженням серця, що виявляють збільшення вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ, починаючи із 14-ї доби посттравматичного періоду з подальшим зниженням до 28-ї доби, яке не досягає рівня контролю.

2. Ускладнення модельованих травм гострою крововтратою в об'ємі 1,5 % від маси тіла порівняно з контрольною групою прискорює накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ у серці: після ЧМТ і ТТЖ – починаючи із 7-ї доби посттравматичного періоду, після СКТ – починаючи з 3-ї доби. Порівняно з травмованими щурами без гострої крововтрати на тлі ЧМТ вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ стає статистично вірогідно більшим через 7, 14, 21 та 28 діб посттравматичного періоду, після ТТЖ – через 7 і 14 діб, після СКТ – через 3 і 7 діб.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Визначення провідного виду уражень військовослужбовців у сучасних військових конфліктах / І. П. Хоменко, К. В. Гуменюк, С. О. Король та ін. *Харківська хірургічна школа*. 2021. №2. С. 128–133. DOI: <https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.23>
2. Hemodynamic consequences of extremity injuries following a terrorist bombing attack: retrospective cohort study / I. Ashkenazi, R. Sevi, F. Turigano-Fuentes et al. *European journal of trauma and emergency surgery: official publication of the European Trauma Society*. 2019. Vol. 45, No. 5. P. 865–870. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00068-018-1017-5>
3. Cannon J. W. Hemorrhagic Shock. *The New England Journal of Medicine*. 2018. Vol. 378, No. 4. P. 370–379. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1705649>
4. Стан процесів вільнорадикального перекисного окиснення у щурів з гострою крововтратою / С. С. Чернадчук, А. О. Рустамова, С. А. Петров, О. К Будняк. *ScienceRise*. 2015. Т.4, №1. С. 16–20. DOI: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.41500>
5. Динаміка антиоксидантно-прооксидантного балансу при травмі органів черевної порожнини на фоні гіповолемічного шоку та реперфузії кінцівки в експерименті / В. О. Крилюк, В. К. Гродецький, І. В. Кузьмінський та ін. *The Unity of Science: International Scientific Professional Periodical Journal* (December 2018 – January 2019, Vienna, Austria). 2019. No. 1. P. 149–152. URL: <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/14872> (дата звернення 14.09.2025).
6. The effect of cell therapy on the intensity of lipid peroxidation processes in the liver, kidneys and lungs of rats of different ages under conditions of experimental cranio-skeletal trauma / N. V. Izhytska, Y. I. Sushko, A. A. Hudyma et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2024. Vol. 77, No. 11. P. 2127–2134. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek/197081>
7. Прояви оксидативного стресу в нирці за умов краніоскелетної травми, поєднаної з тупою травмою живота. Актуальні проблеми транспортної медицини / А. І. Гоженко, Т. Ю. Угляр, А. А. Гудима, Ю. В. Угляр. *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. 2023. № 1–2. С. 149–157. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617816>
8. Зачепа О. А., Сушко Ю. А. Порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу в печінці за умов поєднаної абдомінальної і торакальної травми. *Екстрена медична допомога в надзвичайних умовах: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Тернопіль, 20–24 лютого 2019 р.)*. Тернопіль: ТДМУ, 2019. С. 45–46. URL: <https://repository.tdmu.edu.ua/bitstream/handle/123456789/16977/1/d0%97d0%b1d1%96d1%80d0%bd0%b8d0%ba.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата звернення 15.09.2025).
9. Nguyen H., Zaroff J. G. Neurogenic stunned myocardium. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 2009. Vol. 9, No. 6. P. 486–491. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11910-009-0071-0>
10. Gregory T., Smith M. Cardiovascular complications of brain injury. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*. 2012. Vol. 12, No. 2. P. 67–71. DOI: <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkr058>
11. Association of Traumatic Brain Injury With the Risk of Developing Chronic Cardiovascular, Endocrine, Neurological, and Psychiatric Disorders / S. Izzy, P.M. Chen, Z. Tahir et al. *JAMA network open*. 2022. Vol. 5, No. 4. P. e229478. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.9478>
12. Козак Д. В. Динаміка структурних змін тканини міокарда у періоди ранніх і пізніх проявів експериментальної травматичної хвороби. *Вісник морфології*. 2014. № 1. С. 136–140. URL: [https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v\\_morf/visn\\_morf\\_2014-1.pdf](https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v_morf/visn_morf_2014-1.pdf) (дата звернення: 15.09.2025).
13. Гудима А. А., Денефіль О. В. Інтегральна оцінка системних проявів травматичної хвороби за умов краніоскелетної травми у щурів різної статі. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2024. № 2. С. 72–79. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14849>
14. Левчук Р. Д. Порівняльний вплив гострої крововтрати на перебіг черепно-мозкової, скелетної та тупої травми живота. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали підсумкової LXVII наук.-практ. конференції, м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 р.* Тернопіль: Укрмедкнига, 2024. С. 83–84. URL: <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/123456789/17965> (дата звернення 14.09.2025).
15. Сушко Ю. І., Гудима А. А., Зачепа О. А. Вплив краніоскелетної травми на прояви цитолітичного синдрому в умовах краніоскелетної травми щурів різного віку. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2022. № 3. С. 54–62. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2022.3.13393>
16. Особливості функціонального стану печінки за умов краніоскелетної травми, поєднаної з тупою травмою живота. / Т. Ю. Угляр, М. І. Бадюк, А. А. Гудима та ін. *Світ медицини та біології*. 2023. № 1. С. 238–242. DOI: <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-238-242>
17. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві і ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за ред. В. В. Влізла. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
18. Сушко Ю. І. Антиоксидантно-прооксидантний баланс печінки в динаміці краніоскелетної травми у щурів різного віку. *Медична та клінічна хімія*. 2024. Т. 26. № 3. С. 42–48. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i3.14914>
19. Левчук Р. Д., Дейкало І. М. Роль ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в патогенезі ураження стінки тонкої кишки в динаміці краніоскелетної травми. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2013. № 2. С. 120–123. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem\\_2013\\_2\\_31](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem_2013_2_31).
20. Зачепа О. А., Гудима А. А., Сушко Ю. І. Вплив поєднаної травми живота і грудної клітки на активність процесів ліпідної пероксидації та антиоксидантного захисту в період ранніх проявів травматичної хвороби та їх корекція тіотриазоліном. *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. 2019. № 4. С. 132–143. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3594893>
21. Левчук Р. Д. Особливості процесів ліпідної пероксидації в печінці щурів з черепно-мозковою трав-

мою, тупою травмою живота та скелетною травмою. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2024. № 3. С. 39–46. DOI: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.3.14922>

22. Видовий склад та рівень обмінення мікроорганізмами перитонеального ексудату в ранній період після моделювання скелетної, черепно-мозкової та поєднаної травм / Р. Д. Левчук, О. В. Покришко, Р. М. Борис, Т. І. Дзецюх. *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. 2015. № 4/2. С. 148–156.

## REFERENCES

1. Khomenko, I. P., Gumeniuk, K. V., Korol, S. O., Tsema, E. V., Mikhaylusov R. M., Maidanyuk, V. P., Tertyshnyi, S. V., & Popova, O. N. (2021). Vyznachennia providnogo vydu urazhen viiskovosluzhbovtsiv u suchasnykh viiskovykh konfliktakh [Determination of the leading type of improvements of servicemants in modern military conflicts]. *Kharkiv Surgical School*, (2), 128–133. <https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.23> [in Ukrainian].

2. Ashkenazi, I., Sevi, R., Turıgano-Fuentes, F., Walsh, M. S., Olsha, O., Schechter, W. P., & Alfici, R. (2019). Hemodynamic consequences of extremity injuries following a terrorist bombing attack: retrospective cohort study. *European journal of trauma and emergency surgery : official publication of the European Trauma Society*, 45(5), 865–870. <https://doi.org/10.1007/s00068-018-1017-5>

3. Cannon, J. W. (2018). Hemorrhagic Shock. *The New England journal of medicine*, 378 (4), 370–379. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1705649>

4. Chernadchuk, S. S., Rustamova, A. O. H., Budniak, O. K., & Petrov, S. A. (2015). Stan protsesiv viiloradykalnogo perekysnogo okysnennia u shchuriv z hostroiuv krovovtratoi [State of free-radical peroxidation processes in rats with acute blood loss]. *ScienceRise*, 4(1), 16–20. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.41500> [in Ukrainian].

5. Krylyuk, V. O., Grodetskyi, V. K., Kuzminskyi I. V., Tsimbalyuk, G. Yu., Fedoseeva, O. V., Garian, S. V., Khomko O. I., & Sokolnyk S. O. (2020). Dynamika antyoksydantno-prooksydantnogo balansu pry travmi orhaniv cherevnoi porozhnyny na foni hipovolemichnogo shoku ta reperfuzii kintsivky v eksperymentі [Dynamics of antioxidant-prooxidant balance in abdominal injury with underlying hypovolemic shock and reperfusion syndrom of the limbs in experiment]. *The Unity of Science: International Scientific Professional Periodical Journal* (December 2018 – January 2019, Vienna, Austria), (1), 149–152. <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/14872> [in Ukrainian].

6. Izhytska, N. V., Sushko, Y. I., Hudyma, A. A., Zachepa, O. A., Antonyshyn, I. V., & Denefil, O. V. (2024). The effect of cell therapy on the intensity of lipid peroxidation processes in the liver, kidneys and lungs of rats of different ages under conditions of experimental

23. Levchuk R., Gudyma A., Dzetsiukh T. Dynamics of interleukin-6 in early period in the early period after simulation skeletal, cranial and combined injuries. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 5, No. 9. P. 694-699. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.32195>

24. Кузмінський І. В. Особливості жовчовидільної функції печінки в умовах ішемічно-реперфузного синдрому кінцівок, закритої травми органів черевної порожнини, ускладненої масивною крововтратою. *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. 2018. № 4. С. 148–158. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.2525591>

cranio-skeletal trauma. *Wiadomosci lekarskie*, 77(11), 2127–2134. <https://doi.org/10.36740/WLek/197081>

7. Hozhenko, A. I., Uhliar, T. Yu., Hudyma, A. A. & Uhliar Yu. V. (2023). Proiavy oksydatyvnoho stresu v nyrkakh za umov cherepno-skeletnoi travmy, poiednanoi z tupoiu travmoiu zhyvota zhyvota [Manifestations of oxidative stress in the kidney under conditions of cranio-skeletal injury combined with blunt abdominal injury]. *Actual problems of transport medicine: environment; occupational health; pathology*, (1–2), 149–157. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617816> [in Ukrainian].

8. Zachepa, O. A. & Sushko, Yu. A. (2019). Porushennia antyoksydantno-prooksydantnogo balansu v pechintsi za umov poiednanoi abdominalnoi i torakalnoi travmy. [Disorders of the antioxidant-prooxidant balance in the liver in cases of combined abdominal and thoracic trauma.] *Ekstrena medychna dopomoha v nadzvychainykh umovakh: materialy Vseukr. nauk.-prakt. konf. (m. Ternopil, 20–24 liutoho 2019 r.)*. Ternopil : TDMU (pp. 45–46). Retrieved from: <https://repository.tdmu.edu.ua/bitstream/handle/123456789/169777/d0%97% d0%b1%d1%96%d1%80%d0%bd%d0%b8%d0%ba.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [in Ukrainian].

9. Nguyen, H., & Zaroff, J.G. (2009). Neurogenic stunned myocardium. *Current neurology and neuroscience reports*, 9(6), 486–491. <https://doi.org/10.1007/s11910-009-0071-0>

10. Gregory, T., & Smith, M. (2012). Cardiovascular complications of brain injury. *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, 12 (2), 67–71. DOI: <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkr058>

11. Izzy, S., Chen, P. M., Tahir, Z., Grashow, R., Radmanesh, F., Cote, D. J., Yahya, T., Dhand, A., Taylor, H., Shih, S. L., Albastaki, O., Rovito, C., Snider, S. B., Whalen, M., Nathan, D. M., Miller, K. K., Speizer, F. E., Baggish, A., Weisskopf, M. G., & Zafonte, R. (2022). Association of Traumatic Brain Injury With the Risk of Developing Chronic Cardiovascular, Endocrine, Neurological, and Psychiatric Disorders. *JAMA network open*, 5(4), e229478. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.9478>

12. Kozak, D. V. (2014). Dynamika strukturykh zmін tkanyny miokarda u periody rannikh i piznykh proiaviv eksperymentalnoi travmatychnoi khvoroby [The dynamics of structura l changes of the myocardial tissue during early and late manifestations of experimental traumatic disease]. *Reports of morphology*, (1), 136–140. Retrieved

from: [https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v\\_morf/visn\\_morf\\_2014-1.pdf](https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v_morf/visn_morf_2014-1.pdf) [in Ukrainian].

13. Hudyma, A. A., & Deneffil, O. V. (2024). Integralna otsinka systemnykh proiaviv travmatychnoi khvoroby za umov kranioskeletnoi travmy u shchuriv riznoi stati [Integral evaluation of systemic manifestations of traumatic disease under conditions of craniocerebral trauma in rats of different sexes]. *Hospital Surgery. Journal named by L. Ya. Kovalchuk*, (2), 72–79. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.2.14849> [in Ukrainian].

14. Levchuk, R. D. (2024). Porivnialnyi vplyv hostroi krovovtraty na perebih cherepno-mozkovoї, skeletnoi ta tupoi travmy zhyvota [Comparative impact of acute blood loss on the course of craniocerebral, skeletal and blunt abdominal trauma]. In *Achievements of clinical and experimental medicine* (pp.83–84). Ternopil: Ukrmedknyha. Retrieved from: <https://repository.tdmu.edu.ua/handle/123456789/17965> [in Ukrainian].

15. Sushko, Yu. I., Hudyma, A. A., & Zacheпа, O. A. (2022). Vplyv kranioskeletnoi travmy na proiavy tsytolitychnoho syndromu v umovakh kranioskeletnoi travmy shchuriv riznoho viku [Influence of craniocerebral trauma on the manifestations of cytolytic Syndrome in conditions of craniocerebral trauma in rats of different ages]. *Hospital Surgery. Journal Named by L. Ya. Kovalchuk*, (3), 54–62. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2022.3.13393> [in Ukrainian].

16. Uhlyar, T. Y., Badiuk, M. I., Hudyma, A. A., Saliї, M. I., Tsybaliuk, H. Y., Prokhorenko, O. O., & Maika, I. A. (2023). Osoblyvosti funktsionalnoho stanu pechinky za umov kranioskeletnoi travmy, poiednanoi z tupoiu travmoiu zhyvota [Features of the liver's functional state under conditions of craniocerebral injury combined with blunt abdominal trauma]. *World of Medicine and Biology*, 19(83), 238–242. <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2023-1-83-238-242> [in Ukrainian].

17. Vlizlo, V. V. (Ed.). (2012). Laboratorni metody doslidzhennia u biologii, tvarynnytstvi i veterynarnii medytsyni [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv : Spolom [in Ukrainian].

18. Sushko, Y. I. (2024). Antyoksydantno-prooksydantnyi balans pechinky v dynamitsi kranioskeletnoi travmy u shchuriv riznoho viku [Antioxidant-prooxidant balance of the liver in the dynamics of craniocerebral trauma in rats of different ages]. *Medical and Clinical Chemistry*, (3), 42–48. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2024.i3.14914> [in Ukrainian].

19. Levchuk, R. D., Deikalo, I. M. (2013). Rol lipoperoksydatsii ta antyoksydantnoho zakhystu v patohenezi urazhennia stinky tonkoi kyshky v dynamitsi

kranioskeletnoi travmy [The role of lipoperoxidation and antioxidant protection in the pathogenesis of small intestinal wall damage in the dynamics of craniocerebral trauma]. *Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, (2), 120–123. Retrieved from: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem\\_2013\\_2\\_31](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem_2013_2_31) [in Ukrainian].

20. Zacheпа, O. A., Hudyma, A. A., & Sushko, Yu. I. (2019). Vplyv poiednanoi travmy zhyvota i hruдної klitky na aktyvnist protsesiv lipidnoi peroksydatsii ta antyoksydantnoho zakhystu v period rannikh proiaviv travmatychnoi khvoroby ta yikh korektsiia tiotriazolinom [Influence of the combined intraabdominal and thorax trauma on the activity of lipid peroxidation and antioxidant protection processes in the period of early manifestations of traumatic disease and their correction by thiotriazolin]. *Actual problems of transport medicine: environment; occupational health; pathology*, 4, 132–143 [in Ukrainian].

21. Levchuk, R. D. (2024). Osoblyvosti protsesiv lipidnoi peroksydatsii v pechynsi shchuriv z cherepno-mozkovoїu travmoiu, tupoiu travmoiu zhyvota ta skeletnoiu travmoiu [Peculiarities of lipid peroxidation processes in the liver of rats with craniocerebral trauma, blunt abdominal trauma and skeletal trauma]. *Hospital Surgery. Journal Named by L. Ya. Kovalchuk*, (3), 39–46. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2024.3.14922> [in Ukrainian].

22. Levchuk, R. D., Pokryshko, O. V., Borys, R. M., & Dzetsiukh T. I. (2015). Vydovyi sklad ta riven obsimeninnia mikroorhanizmy perytonealnoho eksudatu v rannii period pislia modeliuвання skeletnoi, cherepno-mozkovoї ta poiednanoi travm [Species composition and level of contamination by microorganisms peritoneal exudate in the early period after simulation skeletal, cranial and combined injuries]. *Actual problems of transport medicine: environment; occupational health; pathology*, (4/2), 148–156 [in Ukrainian].

23. Levchuk, R., Gudyma, A., & Dzetsiukh, T. (2015). Dynamics of interleukin-6 in early period in the early period after simulation skeletal, cranial and combined injuries. *Journal of Education, Health and Sport*, 5(9), 694–699. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.32195>

24. Kuzminskyi, I. V. (2018). Osoblyvosti zhovchovydilnoi funktsii pechinky v umovakh ishemichno-reperfuznoho syndromu kintsivok, zakrytoi travmy orhaniv cherevnoi porozhnyny, uskladnenoї masyvnoїu krovovtratoi [Features biliary liver function in case of ischemic-reperfusion syndrome of limbs, abdominal trauma that complications of massive blood loss]. *Actual problems of transport medicine: environment, occupational health, pathology*, 4, 146–157. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2525591> [in Ukrainian].

Адреса для листування: [levchuk@tdmu.edu.ua](mailto:levchuk@tdmu.edu.ua)

## THE INFLUENCE OF ACUTE BLOOD LOSS ON THE DYNAMICS OF LIPID PEROXIDATION IN THE RAT'S HEART WITH TRAUMATIC BRAIN INJURY, BLUNT ABDOMINAL TRAUMA, AND SKELETAL TRAUMA

### Summary

**Introduction.** In modern conditions, there has been an increase in overall traumatism. Significant blood loss and mechanical tissue damage create conditions for the activation of free radical oxidation processes both in the affected area and in distant tissues and organs. However, the influence of acute blood loss on the development of free radical processes in the heart under conditions of injuries of different localization has not been studied.

**The aim of the study** is to determine the influence of acute blood loss on the dynamics of lipid peroxidation in the rat's hearts with traumatic brain injury (TBI), blunt abdominal trauma (BAT), and skeletal trauma (ST).

**Research methods.** Experiments were conducted on mature male white rats of the Wistar line. Under conditions of thiopental sodium anesthesia, rats were modeled with TBI, BAT and ST, standardized by mortality rate. In separate groups of rats, acute blood loss in a volume of 1,5 % of body weight was additionally modeled. Rats were taken out of the experiment after 3, 7, 14, 21, and 28 days of the post-traumatic period. The content of reagents to thiobarbituric acid (TBA-active products of lipid peroxidation) was determined in the heart homogenate extract.

**Results and discussion.** Simulated TBI, BAT, and ST, starting from the 14th day of the post-traumatic period, were accompanied by the activation of LPO processes in the heart, which did not reach the control level until the 28th day. The greatest accumulation of TBA-active LPO products in the heart was observed on the background of BAT, compared with other study groups. Complications of modeled injuries with acute blood loss caused a deepening of metabolic disorders in the heart, starting from the early post-traumatic period, which prevailed in rats with BAT after 7, 14, and 21 days. Compared to injured rats without blood loss, rats with TBI had significantly higher levels of TBA-active LPO products after 7, 14, 21, and 28 days of the post-traumatic period, rats with BAT had higher levels after 7 and 14 days, and in rats with ST – after 3 and 7 days.

**Conclusions.** Acute blood loss significantly exacerbates the severity of metabolic disorders in the heart in conditions of mechanical trauma of various localization, which is revealed by an increase in the content of TBA-active products of LPO, substantially prevailing in rats with BAT compared to injuries of other localization.

KEY WORDS: traumatic brain injury; blunt abdominal trauma; skeletal trauma; acute blood loss; kidney; lipid peroxidation.

Стаття надійшла до редакції 08.09.2025  
Стаття прийнята 30.09.2025  
Статтю опубліковано 24.10.2025



L. I. Budniak<sup>1</sup>, O. O. Pokotylo<sup>1</sup>, H. I. Kramar<sup>2</sup>,  
I. P. Bilyk<sup>3</sup>, R. Yu. Basaraba<sup>4</sup>, Yu. Yu. Plaskonis<sup>1</sup>

<sup>1</sup> I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

<sup>2</sup> NATIONAL PIROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY

<sup>3</sup> IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

<sup>4</sup> BUKOVINIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

## ANALYSIS OF PRICE CONJUNCTURE AND REIMBURSEMENT OF MEDICINES USED IN THE TREATMENT OF OBSTRUCTIVE AIRWAY DISEASES

**Introduction.** Chronic obstructive respiratory diseases, including chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma, emphysema, and bronchiectasis, are long-term inflammatory disorders of the airways. In Ukraine, as in other countries, ensuring the economic availability of medicines for the treatment of these diseases is an important priority of national health policy.

**The aim of the study** is to analyze the price conjuncture and reimbursement of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases.

**Research Methods.** The study utilized data from the State Register of Medicines of Ukraine, the “Compendium online” database, the official list of medicines subject to reimbursement under the “Affordable Medicines” program, and information from the online resources “Apteki.ua”, “Tabletki.ua”.

**Results and Discussion.** The analysis showed that for 21 medicines, the price liquidity coefficient was  $\leq 0.15$ , indicating high price stability. Seventy-four medicines had values in the range of 0.16–0.5, while for seven items, the coefficient exceeded 0.5, indicating significant price fluctuations.

The solvency adequacy coefficient for 11 medicines exceeded the threshold of 0.5. Zafiron had the highest solvency adequacy coefficient – 1.72.

The affordability coefficient exceeded 0.99 for 13 medicines, most of which were domestically produced (e.g., Eufillin, Theopek), confirming better affordability of Ukrainian drugs compared to imported analogues.

As of September 10, 2025, the updated list of medicines included in the “Affordable Medicines” reimbursement program for the treatment of obstructive airway diseases includes seven international nonproprietary names: beclometasone, budesonide, ipratropium bromide, salbutamol, tiotropium bromide, salmeterol with fluticasone, formoterol with budesonide.

**Conclusions.** The study identified and analyzed key indicators: the price liquidity coefficient, the affordability coefficient, and the solvency adequacy coefficient. The results indicate that certain medicines included in the reimbursement program and manufactured in Ukraine are economically accessible to patients. At the same time, other medicines – especially imported combinations – remain financially less accessible for a significant portion of the population.

**KEY WORDS:** obstructive airway diseases; price conjuncture; “Affordable Medicines” program; reimbursement of medicines.

**INTRODUCTION.** Chronic obstructive respiratory diseases, including chronic obstructive pulmonary disease (COPD), bronchial asthma, emphysema, and bronchiectasis, are longlasting inflammatory disorders of the airways. Among them, COPD and bronchial asthma stand out as leading causes of illness and death worldwide, generating substantial and steadily increasing healthcare costs. Over the past decades, these conditions have become a major global public health challenge. Evidence shows that COPD is among the top causes of mortality in many countries, while asthma affects between 1 %

and 18 % of the population across different nations [1; 2].

According to recent projections, demographic factors such as an aging population and rapid urbanization are expected to contribute to a rise in the absolute number of COPD cases globally. The number of affected individuals may increase by approximately 23 %, potentially reaching 600 million, with a heavier burden observed among women and people in low- and middle-income countries. Interestingly, while the total number of cases may increase, some forecasts suggest a slight decrease in overall prevalence – from 10.6 % in 2020 to 9.5 % by 2050 – potentially due to improvements in environmental conditions, modernization, and public health initiatives [3; 4].

In the context of state pharmaceutical policy aimed at improving access to essential medicines, particular attention should be paid to the pricing landscape and reimbursement status of drugs used in the treatment of obstructive airway diseases. Considering the chronic nature of these conditions and the need for long-term pharmacotherapy, the economic affordability of medicines becomes a critical factor in ensuring treatment continuity and effectiveness.

Therefore, further analysis is focused on the price conjuncture and reimbursement coverage of relevant pharmaceutical products, which allows for evaluating their market accessibility and the extent to which state support mechanisms, such as the “Affordable Medicines” program, contribute to relieving the financial burden for patients with chronic respiratory disorders.

The aim of the study is to analyze the price conjuncture and reimbursement of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases.

**RESEARCH METHODS.** The objects of the study were the State register of medicines of Ukraine (State register of medicines of Ukraine, <http://www.drlz.com.ua>), the directory of medicines Compendium online, the ATC-classification (group R03 – drugs for obstructive airway diseases) [5; 6], the list of medicines whose cost is subject to reimbursement [7], online resources for searching drugs in Ukrainian such as “Apteki.ua” and “Tabletki.ua” [8; 9].

The study used the following methods: mathematical-statistical, logical generalization, and graphical methods. The obtained data were systematized and presented in diagrams with explanations and conclusions.

**RESULTS AND DISCUSSION.** Price, as one of the key elements of the pharmaceutical marketing mix, plays a crucial role not only in generating revenue from the sale of medicines

but also in providing manufacturers with insights into the actual demand for pharmaceutical products and offering consumers an indicator of their availability and the potential to meet their pharmacotherapeutic needs. Among the core indicators that reflect market conditions – particularly on the supply side – are the assortment of medicines and price dynamics.

The liquidity coefficient in April 2025 was  $\leq 0.15$  for 21 pharmaceutical product items (PPIs) and ranged from 0.16 to 0.5 for 74 PPIs. Price fluctuations exceeding 50 % were observed for 7 PPIs of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases (Fig. 1).

A high value of the price liquidity coefficient indicates considerable price variability in the pharmaceutical market. Such price inconsistency may suggest non-competitive pricing strategies, or market instability, making it difficult to forecast costs for both consumers and healthcare institutions.

In contrast, a low value of this coefficient ( $\leq 0.15$ ) reflects a more homogeneous market, where medicine prices are more stable and predictable (Fig. 2). This stability may indicate effective market mechanisms, including sufficient competition, reliable supplier presence, or state-regulated pricing.

Analysis of the medicines presented in Figure 2 shows that many items have extremely low liquidity coefficients – for instance, Budesonide Easyhaler demonstrates a value of 0.004, indicating virtually uniform pricing. This may be a result of centralized procurement, reimbursement based on fixed prices, or pricing monopolies set by individual manufacturers.

To assess the impact of patients’ purchasing power on the demand for medicines used in the treatment of obstructive airway diseases, it is important to calculate a specific indicator known as the solvency adequacy coefficient.

In April 2025, for 11 PPIs (Fig. 3) used in the treatment of obstructive airway diseases,

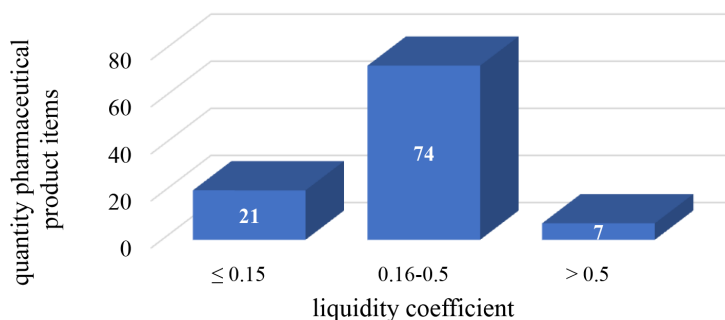


Fig. 1. Diagram of the distribution of price liquidity coefficients of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases

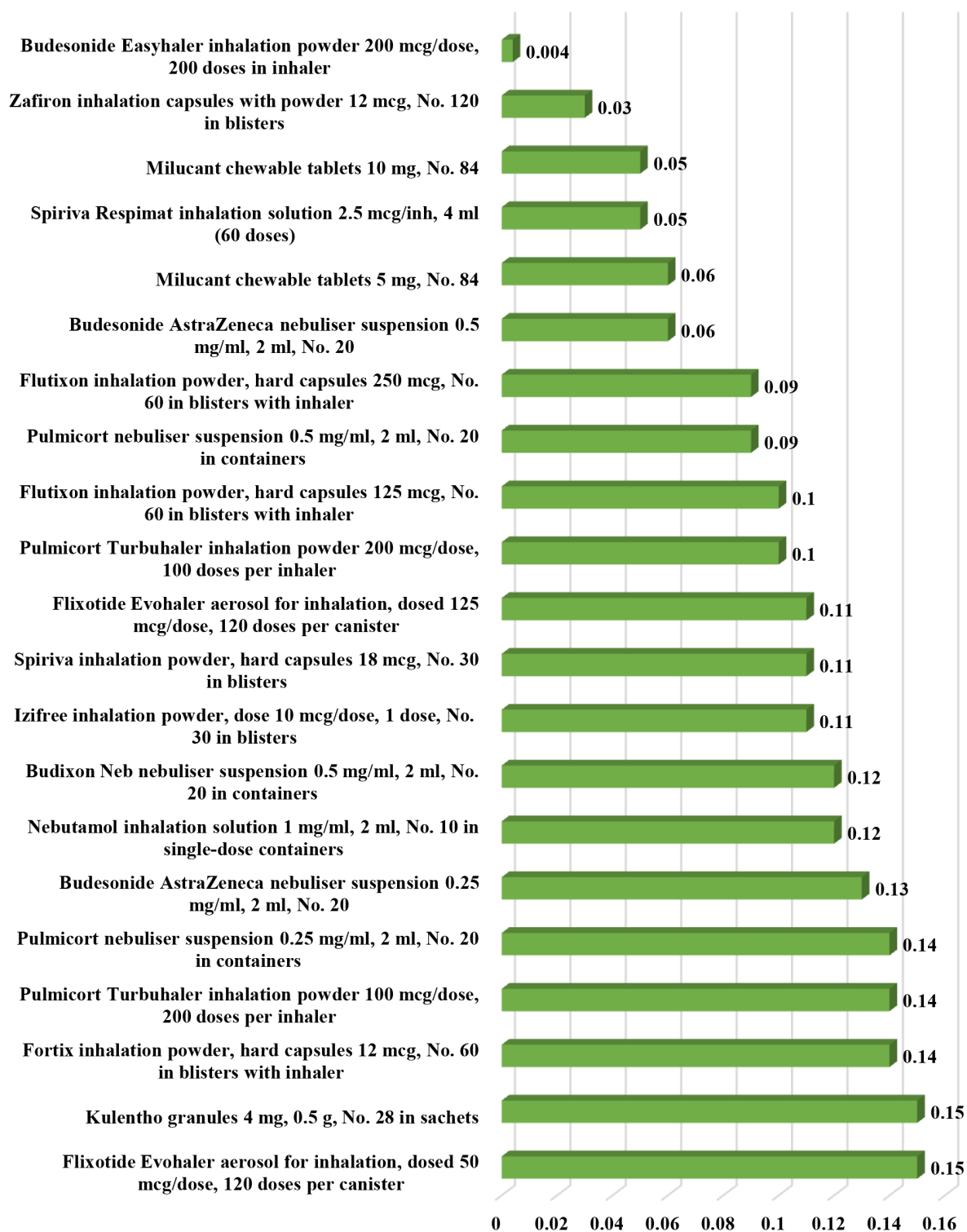


Fig. 2. Diagram of the liquidity coefficients of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases ( $\leq 0.15$ )

the affordability adequacy coefficient exceeded 0.5. In contrast, for the remaining medicines, this indicator did not surpass the specified threshold.

A high affordability adequacy coefficient for medicines used in the treatment of obstructive

airway diseases indicates a decrease in the population's purchasing power or a shift in market conditions. Overall, an increase in the proportion of medicines with a high affordability adequacy coefficient signals a deterioration in their accessibility for the population, which may

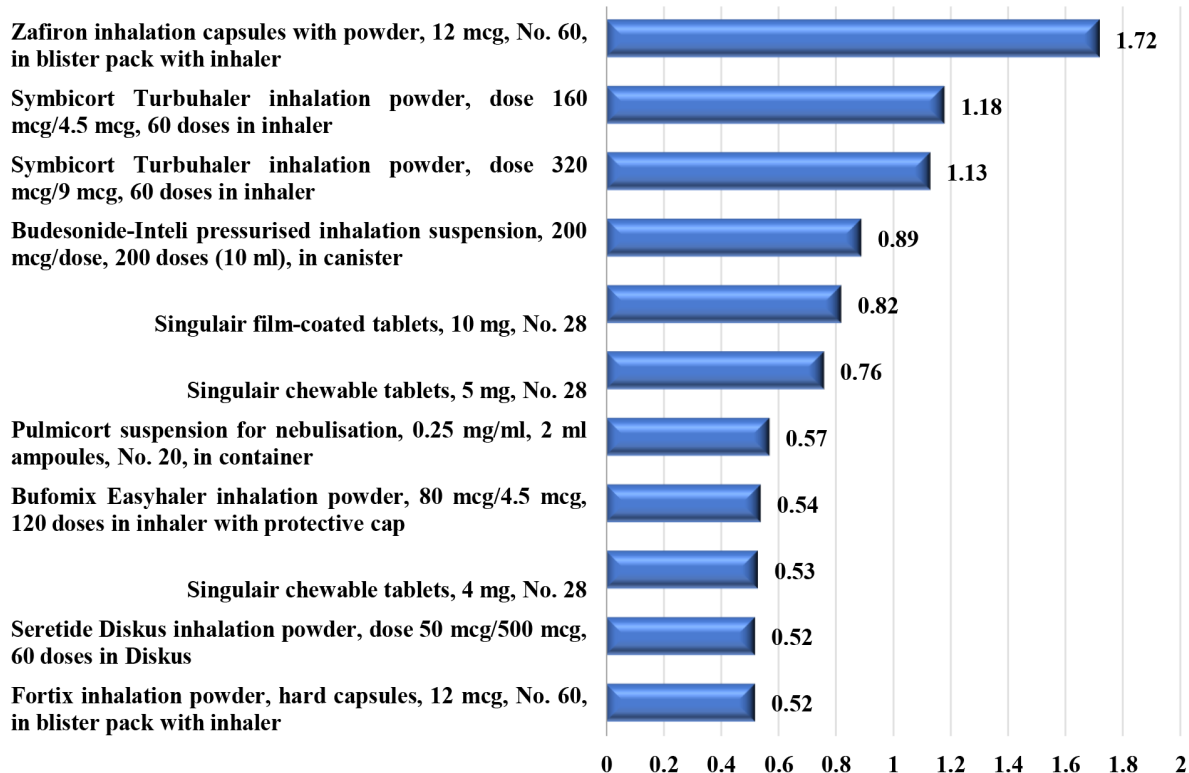


Fig. 3. Diagram of the solvency adequacy coefficient of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases (>0.5)

negatively affect demand and the overall health status of patients.

According to the data shown in Figure 3, Zafiron inhalation capsules had the highest affordability adequacy coefficient (1.72), followed by Symbicort Turbuhaler powder in two dosages – 160 mcg/4.5 mcg (1.18) and 320 mcg/9 mcg (1.13). These medicines may be particularly burdensome for patients financially. Other medicines such as Budesonide-Inteli (0.89), Singulair film-coated tablets, 10 mg (0.82), and both Singulair chewable tablets (5 mg – 0.76; 4 mg – 0.53) also exhibited elevated values. Even nebuliser formulations like Pulmicort suspension and Bufomix Easyhaler surpassed the 0.5 threshold, indicating challenges in affordability. The lowest among this group (but still above 0.5) were Seretide Diskus and Fortix inhalation powder (both at 0.52).

This analysis underscores the necessity to reassess pricing policies and consider expanding reimbursement programs to enhance access to essential respiratory therapies.

The affordability adequacy coefficient indicates the accessibility of medicines. The higher the coefficient, the more affordable the medicine is for the patient.

In April 2025, the affordability coefficient exceeded 0.99 for 13 pharmaceutical product

items (PPIs) used in the treatment of obstructive airway diseases, indicating a high level of accessibility of these medicines for the population (Fig. 4). These included Eufillin-N 200, Eufillin-Zdorovye, Eufillin-Darnitsa, Eufillin, Theofedrine IC, Teopec, Neophyllin, Salbutamol, Salbutamol-Neo, Salbutamol-Inteli, and Ventolin Evohaler.

The remaining medicines had slightly lower affordability coefficients, specifically: 0.92 for 2 PPIs, 0.94 for 3 PPIs, 0.95 for 9 PPIs, 0.96 for 18 PPIs, 0.97 for 27 PPIs, and 0.98 for 30 PPIs. This distribution demonstrates that a significant proportion of medicines remains highly accessible, although even minor decreases in the affordability coefficient may reflect gradual changes in price dynamics or purchasing power.

It is important to note that domestically produced medicines demonstrate higher accessibility coefficients compared to imported analogues. This suggests a significant economic advantage of Ukrainian pharmaceutical products, which enhances the opportunities for effective treatment among the population and supports broader access to essential pharmacotherapy under current socioeconomic conditions.

According to the “Affordable Medicines” program, reimbursement covers the cost of

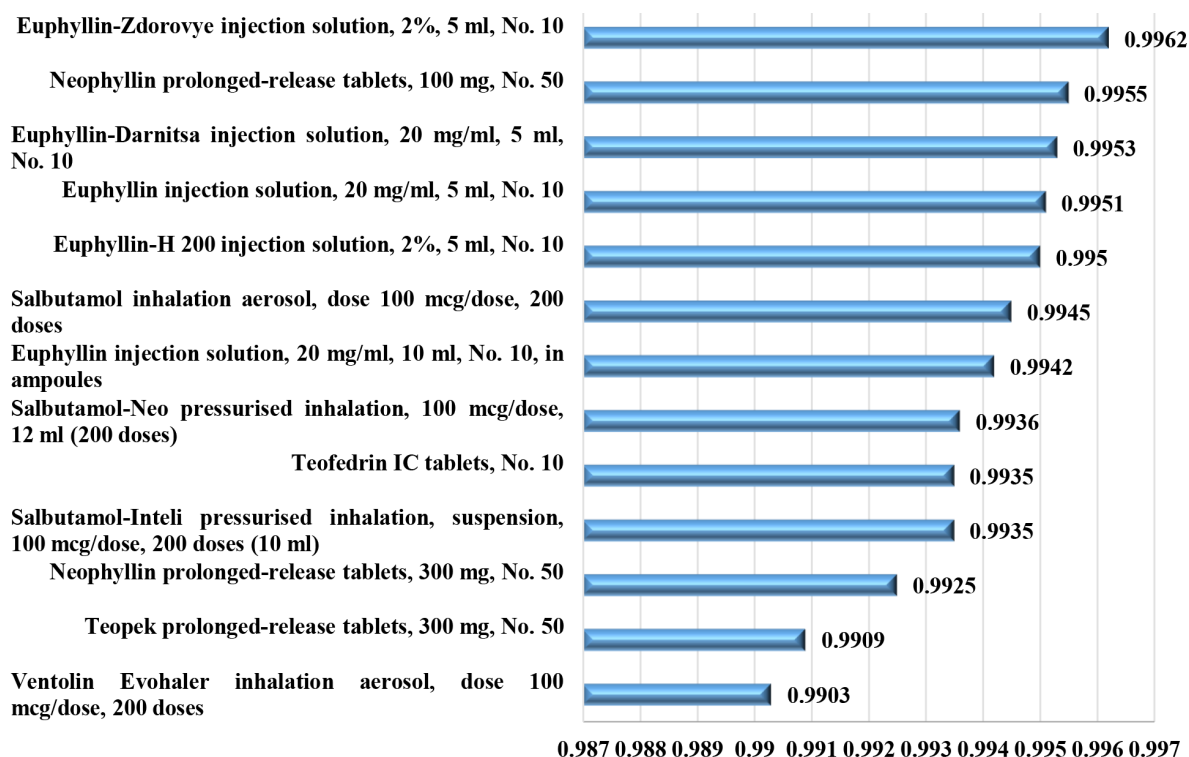


Fig. 4. Diagram of affordability adequacy coefficients of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases exceeding 0.99

medicines or provides partial reimbursement for patients. The reimbursement within this program helps reduce the financial burden on patients by providing them access to essential medicines. This is especially important for individuals who require ongoing medication, such as patients with asthma and COPD, as the program helps them obtain life-saving medicines without significant treatment costs.

Starting from September 10, 2025, the Ministry of Health of Ukraine updated the list of medicines reimbursed under the state medical service guarantee program, in accordance with the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 1409 "On Approval of the Lists of Medicines and Medical Devices Eligible for Reimbursement under the State Medical Service Guarantee Program, as of August 28, 2025" [10].

Among the medicines used in the treatment of obstructive airway diseases within the framework of the "Affordable Medicines" program, medicines with the International nonproprietary names Beclometasone, Budesonide, Ipratropium bromide, Salbutamol, Tiotropium bromide, Salmeterol and Fluticasone, Formoterol and Budesonide are dispensed (Table 1).

Compared to the previous register, the new list of trade names under the international nonproprietary name Salbutamol includes one additional trade name – Salbutamol-Inteli [11].

These medicines (Table 1) are commonly used in the treatment of obstructive airway diseases, such as asthma and COPD, and may be dispensed within the framework of the "Affordable Medicines" program either for free or with a co-payment for patients.

Table 1 – Medicines used in the treatment of obstructive respiratory diseases and dispensed within the framework of the "Affordable Medicines" program

International nonproprietary name	Trade name	Dosage form	Dosage	Country of manufacture	Co-payment amount for the consumer packaging, UAH
1	2	3	4	5	6
Beclometasone	Beclazone-Eco	Inhalation aerosol	0.1	Ireland	179.81
	Beclazone-Eco	Inhalation aerosol	0.25	Ireland	0.00
	Beklofort™ Evohaler™	Inhalation aerosol	0.25	France	83.19

1	2	3	4	5	6
Budesonide	Pulmicort Turbuhaler	Inhalation powder	0.1	Sweden	118.28
	Pulmicort Turbuhaler	Inhalation powder	0.2	Sweden	118.28
	Budesonide Inhaler	Inhalation powder	0.2	Finland	37.21
	Budesonid-Inteli	pressurized inhalation, suspension	0.2	Spain	0.00
	Budesonid-Inteli Neb	suspension for nebulization	0.25	Italy	159.47
	Budesonid-Teva	suspension for nebulization	0.25	UK	296.11
	Nebulomax	suspension for nebulization	0.25	Ukraine	175.41
	Benodil	suspension for nebulization	0.5	Italy	180.28
	Budesonid Astrazeneca	suspension for nebulization	0.5	Sweden	0.00
	Budesonid-Inteli Neb	suspension for nebulization	0.5	Italy	0.00
	Budesonid-Teva	suspension for nebulization	0.5	UK	44.25
	Budicon NEB	suspension for nebulization	0.5	Italy	350.82
	Nebulomax	suspension for nebulization	0.5	Ukraine	0.00
	Pulmicort	suspension for nebulization	0.5	Sweden	531.57
Ipratropium bromide	FREEWAY®	inhalation solution	0.25	Ukraine	0.00
Salbutamol	Salbutamol	aerosol for inhalation	0.1	France	18.44
	Salbutamol-Neo	aerosol for inhalation	0.1	Ukraine	0.00
	Salbutamol-Inteli	pressurized inhalation suspension	0.1	Spain	104.89
Tiotropium bromide	Spiriva®	inhalation powder, dosed capsules	18	Germany	0.00
	EasyFree®	inhalation powder, dosed capsules	10	India	0.00
Salmeterol + Fluticasone	Seretide Diskus™	Inhalation powder, metered-dose	50 mcg / 100 mcg	France	0.00
	Seretide Diskus™	Inhalation powder, metered-dose	50 mcg / 250 mcg	France	0.00
	Seretide Diskus™	Inhalation powder, metered-dose	50 mcg / 500 mcg	France	0.00
Budesonide + Formoterol	Symbicort Turbuhaler	Inhalation powder, metered-dose	320 mcg / 9 mcg	Sweden	332.23
	Symbicort Turbuhaler	Inhalation powder, metered-dose	160 mcg / 4.5mcg	Sweden	0.00
	Symbicort Turbuhaler	Inhalation powder, metered-dose	80 mcg / 4.5 mcg	Sweden	0.00
	Symbicort Turbuhaler	Inhalation powder, metered-dose	160 mcg / 4.5mcg	Sweden	0.00
	Bufomix Easyhaler	Inhalation powder	160 mcg / 4.5mcg	Finland	0.00
	Bufomix Easyhaler	Inhalation powder	8 mcg / 4.5mcg	Finland	0.00
	Bufomix Easyhaler	Inhalation powder	320 mcg / 9mcg	Finland	0.00

**CONCLUSIONS.** 1. In order to assess the economic accessibility of medicines used in the treatment of obstructive airway diseases, the liquidity coefficient, solvency adequacy coefficient, and affordability coefficient were calculated.

2. The liquidity coefficient for 21 pharmaceutical product items (PPIs) was  $\leq 0.15$ ; for 74 PPIs, it ranged from 0.16 to 0.5; and for 7 PPIs, it exceeded 0.5 (i.e., 50 %). For Budesonide Easyhaler, the coefficient was 0.004, indicating an almost fixed price, likely due to state regulation or reimbursement.

3. The solvency adequacy coefficient exceeded the threshold value of 0.5 for 11 PPIs, indicating their financial inaccessibility for a significant portion of the population. The highest

values were observed for the following medicines: Zafiron (1.72), Symbicort Turbuhaler (1.18), and Budesonid-Inteli (0.89).

4. According to the affordability coefficient, 13 PPIs had values above 0.99, indicating high accessibility. These were mainly medicines of Ukrainian origin, such as Eufillin, Teopek, Neophyllin, and Ventolin Evohaler. Domestic medicines were generally more affordable compared to imported analogues.

5. As of September 10, 2025, the updated "Affordable Medicines" program includes a range of medicines with the following International Non-proprietary Names: Beclometasone, Budesonide, Ipratropium bromide, Salbutamol, Tiotropium bromide, Salmeterol with Fluticasone, and Budesonide with Formoterol. These medicines

are dispensed free of charge or with partial co-payment, which contributes to treatment continuity and reduces the financial burden on patients.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Minov J., Stoleski S. Chronic obstructive airways diseases: where are we now? *The open respiratory medicine journal*. 2015. No. 9. P. 37–38. DOI: 10.2174/1874306401509010037

2. Global Initiative for Asthma. URL: <https://ginasthma.org/> (accessed: 08.05.2025).

3. Cho S. J., Stout-Delgado H. W. Aging and lung disease. *Annual review of physiology*. 2020. No. 82. P. 433–459. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021119-034610

4. Boers E., Barrett M., Su J. G., Benjafield A. V., Sinha S., Kaye L., Zar H. J., Vuong V., Tellez D., Gondalia R., Rice M. B., Nunez C. M., Wedzicha J. A., Malhotra A. Global burden of chronic obstructive pulmonary disease through 2050. *JAMA Network Open*. 2023. No. 6 (12) P. e2346598. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.46598

5. Компендіум. Лікарські препарати. URL: <https://compendium.com.ua> (дата звернення: 02.04.2025).

6. ATC/DDD Index 2025. URL: [https://atcddd.fhi.no/atc\\_ddd\\_index/](https://atcddd.fhi.no/atc_ddd_index/) (дата звернення: 02.04.2025).

7. Доступні ліки. URL: <https://moz.gov.ua/uk/dev-dostupni-liky> (дата звернення: 02.04.2025).

8. Apteki.ua. URL: <https://apteki.ua/uk> (дата звернення: 02.04.2025).

9. Tabletki.ua. URL: <https://tabletki.ua/uk/> (дата звернення: 02.04.2025).

10. «Доступні ліки» повний перелік станом на 10 вересня 2025 року. URL: [https://moz.gov.ua/storage/uploads/3ffce9e1-5270-42d0-9000-57645355d2f9/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%D0%BD%D1%96-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D0%B8\\_10.09.25.pdf](https://moz.gov.ua/storage/uploads/3ffce9e1-5270-42d0-9000-57645355d2f9/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%D0%BD%D1%96-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D0%B8_10.09.25.pdf) (дата звернення: 20.09.2025).

11. Research of the range of bronchodilators used in the treatment of obstructive respiratory diseases and analysis of their availability within the framework of the "Affordable Medicines" program / L. Budniak et al. *Fitoterapia*. 2025. No. 2. P. 171–179. DOI: 10.32782/2522-9680-2025-2-171.

#### REFERENCES

1. Minov, J., & Stoleski, S. (2015). Chronic obstructive airways diseases: Where are we now? *The Open Respiratory Medicine Journal*, 9, 37–38. <https://doi.org/10.2174/1874306401509010037>

2. Global Initiative for Asthma. Retrieved from: <https://ginasthma.org/>.

3. Cho, S. J., & Stout-Delgado, H. W. (2020). Aging and Lung Disease. *Annual review of physiology*, 82, 433–459. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021119-034610>

4. Boers, E., Barrett, M., Su, J. G., Benjafield, A. V., Sinha, S., Kaye, L., Zar, H. J., Vuong, V., Tellez, D., Gondalia,

R., Rice, M. B., Nunez, C. M., Wedzicha, J. A., & Malhotra, A. (2023). Global Burden of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Through 2050. *JAMA network open*, 6 (12), e2346598. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.46598>

5. Compendium. Likarski preparaty [Compendium. Medicines]. Retrieved from: <https://compendium.com.ua> [in Ukrainian].

6. ATC/DDD Index 2025. Retrieved from: [https://atcddd.fhi.no/atc\\_ddd\\_index/](https://atcddd.fhi.no/atc_ddd_index/).

7. Dostupni liky [Affordable Medicines]. Retrieved from: <https://moz.gov.ua/uk/dev-dostupni-liky> [in Ukrainian].

8. Apteki.ua. Retrieved from: <https://apteki.ua/uk>.

9. Tabletki.ua. Retrieved from: <https://tabletki.ua/uk/>.  
10. "Dostupni liky" – povnyi pereklik stanom na 10 veresnia 2025 roku ["Affordable Medicines" – full list as of September 10, 2025]. Retrieved from: [https://moz.gov.ua/storage/uploads/3ffce9e1-5270-42d0-9000-57645355d2f9/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%D0%BD%D1%96-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D0%B8\\_10.09.25.pdf](https://moz.gov.ua/storage/uploads/3ffce9e1-5270-42d0-9000-57645355d2f9/%D0%94%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%83%D0%BF%D0%BD%D1%96-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D0%B8_10.09.25.pdf) [in Ukrainian].

11. Budniak, L., Matkovska, D., Alchuk, O., Shkondina, O., Kramar, H., Marchyshyn, S., & Slobodianiuk, L. (2025). Research of the range of bronchodilators used in the treatment of obstructive respiratory diseases and analysis of their availability within the framework of the "Affordable Medicines" program. *Fitoterapia*, (2), 171–179. <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2025-2-171>.

Адреса для листування: [stoyko\\_li@tdmu.edu.ua](mailto:stoyko_li@tdmu.edu.ua)

Л. І. Будняк<sup>1</sup>, О. О. Покотило<sup>1</sup>, Г. І. Крамар<sup>2</sup>, І. П. Білик<sup>3</sup>,  
Р. Ю. Басараба<sup>4</sup>, Ю. Ю. Пласконіс<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
<sup>2</sup> ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М. І. ПИРОГОВА  
<sup>3</sup> ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
<sup>4</sup> БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

## АНАЛІЗ ЦІНОВОЇ КОН'ЮНКТУРИ ТА РЕІМБУРСАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ЩО ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОБСТРУКТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

### Резюме

**Вступ.** Хронічні обструктивні захворювання дихальних шляхів, включно із хронічним обструктивним захворюванням легень, бронхіальною астмою, емфіземою та бронхоектатичною хворобою, є тривалими запальними розладами дихальних шляхів. В Україні, як і в інших країнах, забезпечення економічної доступності лікарських засобів для лікування цих захворювань є важливим пріоритетом державної політики у сфері охорони здоров'я.

**Мета дослідження** – проаналізувати цінову кон'юнктуру та реімбурсацію лікарських засобів, що застосовуються для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів.

**Методи дослідження.** У дослідженні використано дані з Державного реєстру лікарських засобів України, бази даних Compendium.online, офіційного переліку лікарських засобів, що підлягають реімбурсації за програмою «Доступні ліки», а також інформацію з онлайн-ресурсів Artekі.ua, Tabletki.ua.

**Результати й обговорення.** Аналіз показав, що для 21 найменування лікарських засобів коефіцієнт ліквідності був  $\leq 0,15$ , що вказує на високу стабільність цін. 74 лікарські засоби мали значення в межах 0,16–0,5, а для 7 – коефіцієнт перевищував 0,5, що свідчить про значні цінові коливання.

Коефіцієнт адекватності платоспроможності для 11 лікарських засобів перевищував граничне значення 0,5. Зафірон мав найвищий показник коефіцієнта адекватності платоспроможності – 1,72.

Коефіцієнт доступності перевищував 0,99 для 13 лікарських засобів, більшість з яких – вітчизняного виробництва (наприклад, Еуфілін, Теопек), що підтверджує кращу доступність українських препаратів порівняно з імпортованими аналогами.

Станом на 10 вересня 2025 року перелік лікарських засобів, включених до оновленої програми реімбурсації «Доступні ліки» для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів, охоплює сім міжнародних непатентованих назв: беклометазон, будесонід, іпратропію бромід, сальбутамол, тіотропію бромід, сальметерол з флутиказоном, формотерол з будесонідом.

**Висновки.** Під час дослідження були визначені та проаналізовані основні показники: коефіцієнт ліквідності, коефіцієнт доступності й коефіцієнт адекватності платоспроможності. Отримані результати свідчать, що окремі лікарські засоби, включені до програми реімбурсації та вироблені в Україні, є економічно доступними для пацієнтів. Водночас інші препарати – особливо імпортовані комбінації – залишаються фінансово менш доступними для значної частини населення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: обструктивні захворювання дихальних шляхів; цінова кон'юнктура; програма «Доступні ліки»; відшкодування вартості лікарських засобів.

Стаття надійшла до редакції 12.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



М. І. Дручок, Л. С. Логойда  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## РОЗРОБКА ВЕРХ-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ КАРБОПЛАТИНУ В ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ СОЛЕЙ ХАОТРОПНИХ АНІОНІВ

**Вступ.** Провідні фармакопеї світу регламентують проводити хроматографічне визначення карбоплатину з використанням амінопропільної хроматографічної колонки (клас L8). У науковій літературі описано розробку ВЕРХ-методик лікарських засобів на основі карбоплатину в різних матрицях з використанням іон-парних реагентів, проте такі методики мають певні недоліки. Ми у своїй роботі пропонуємо застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази на хроматографічній колонці C18 як перспективний підхід до розробки ВЕРХ-методик карбоплатину в лікарських засобах, що дасть змогу покращити утримування та форму піка.

**Метою роботи** була розробка експресної, простої, відтворюваної та «зеленої» ВЕРХ-методики визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів.

**Методи дослідження.** Для проведення дослідження використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з ДМД, для отримання хроматограм та інтегрування результатів – програмне забезпечення LabSolutions. Хроматографічна колонка – Luna C18 (100 x 4,6 мм, 3 мкм) виробництва Phenomenex, ФСЗ карбоплатину (чистота  $\geq 99\%$ , ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., лікарська форма Ebeve (10 мг/мл), Австрія.

**Результати й обговорення.** Важливою перевагою застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази є покращення симетрії піків та їх утримування, а також скорочення часу аналізу. Це можна досягти, використовуючи низькі кількості ацетонітрилу (ACN) (5–10 %) і високі кількості буферного розчину 40–50 мМ, одного з найсильніших хаотропів за теорією Гофмейстера  $KPF_6$  (рН 2,3–2,5), у складі рухомої фази на колонках C18 або C8. Встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення карбоплатину в лікарському засобі: хроматографічна колонка Luna C18 (100 x 4,6 мм, 3 мкм), рухома фаза – 5 % ACN та 95 % буферного розчину  $KPF_6$  (40 мМ) рН 2,43, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв. Лінійність вивчали в діапазоні 15–90 мкг/мл методом найменших квадратів і розраховували рівняння регресії ( $y = 10\,148x + 56\,213$ ) з коефіцієнтом кореляції ( $R^2 = 0,9986$ ). Межа виявлення (МВ) становила 3,58 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 10,86 мкг/мл. Найсучаснішими інструментами вивчення «зеленості» AGREE (бал 0,74), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 77,78), CaFRI (бал 82) та CACI (бал 79) встановлено, що запропонована ВЕРХ-методика є екологічно безпечною.

**Висновки.** Розроблено експресну, просту, відтворювану та «зелену» ВЕРХ-методику визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ-методика дає змогу провести хроматографування та кількісне визначення карбоплатину на C18 октадецилсилільній колонці та без застосовування іон-парних реагентів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карбоплатин; кількісне визначення; ВЕРХ; хаотропи; зеленість.

ВСТУП. Карбоплатин, (SP-4-2)-діамін[циклобутан-1,1-ді(карбоксилато-кО)(2-)]платина, є хіміотерапевтичним засобом, який використовується для лікування різних видів раку, включно із саркомою, деякими карциномами, лімфомами та гермінативними пухлинами [1]. Хроматографічне визначення карбоплатину та його супровідних домішок було незвичайним випадком і проблемою через неорганічну структуру із центрально розташованим атомом платини [2]. Провідні фармакопеї світу (Європейська, Британська

та США) регламентують проводити хроматографічне визначення з використанням амінопропільної хроматографічної колонки (клас L8) [3–5]. У науковій літературі описано розробку аналітичних методик лікарських засобів на основі платини в різних матрицях із використанням різних підходів (використання іон-парних реагентів, амінопропільних колонок тощо), проте такі методики мають певні недоліки [6–12]. Ми у своїй роботі пропонуємо застосування солей хаотропних аніонів у складі рухомої фази на хроматографічній колонці C18 як перспективний підхід до розробки ВЕРХ-методик карбоплатину

в лікарських засобах, що дасть змогу покращити утримування та форму піка [13; 14]. У цій роботі ми представляємо вигідні ролі хаотропних агентів (солей) для успішної розв'язки обернено-фазової ВЕРХ з діодноматричним детектором (ДМД) методики. Включення сильної хаотропної солі в рухому фазу показало істотні спрощення та зменшення часу проведення аналізу. Запропонований підхід може бути використаний і у фармацевтичному аналізі інших аналітів.

Метою роботи була розробка експресної, простої, відтворюваної та «зеленої» ВЕРХ-методики визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для проведення дослідження використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з ДМД, для отримання хроматограм та інтегрування результатів – програмне забезпечення LabSolutions. У роботі використовували: ваги аналітичні електронні лабораторні RAD WAG

AS 200/C; ультразвукову баню (Elmasonic Easy 40 H, Germany), рН-метр (Mettler-Toledo, model LE438, Switzerland). Хроматографічна колонка – Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) виробництва Phenomenex.

ФСЗ карбоплатину (чистота ≥ 99 %, ВЕРХ) закуплено в Sigma-Aldrich Chemicals Co., лікарська форма Ebeve (10 мг/мл), Австрія. Калію гексафторфосфат (KPF<sub>6</sub>), ацетонітрил (ACN), вода (≥ 99,9 % чистоти) отримано від Honeywell, Riedel-de Haen (Німеччина). Фосфорна кислота 88 % (для корегування рН) закуплена в Honeywell Fluka. Для фільтрування аналізованих розчинів використовували фільтри RS Membrane (розміром 0,45 мкм, Phenex, Німеччина).

*Хроматографічні умови*

Ізократичне хроматографічне розділення проводили на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм). Рухома фаза складалася з буфера 40 мМ KPF<sub>6</sub> (рН 2,43) та ACN (95:5). Рухома фаза була дегазована ультразвуком перед використанням. Температура колонки – 30 °С, швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв,

Таблиця 1 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	НЕТР (USP)	Resolution (USP)
1	2,287	1563807	209315	97,651	1,220	0,000	–	1872	80,113	–
2	3,416	37613	7274	2,349	–	0,494	0,000	8269	18,141	6,244
Разом		1601420	216588	100,000						

Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 90- ACN 10 flow rate 0.6 column 30\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5

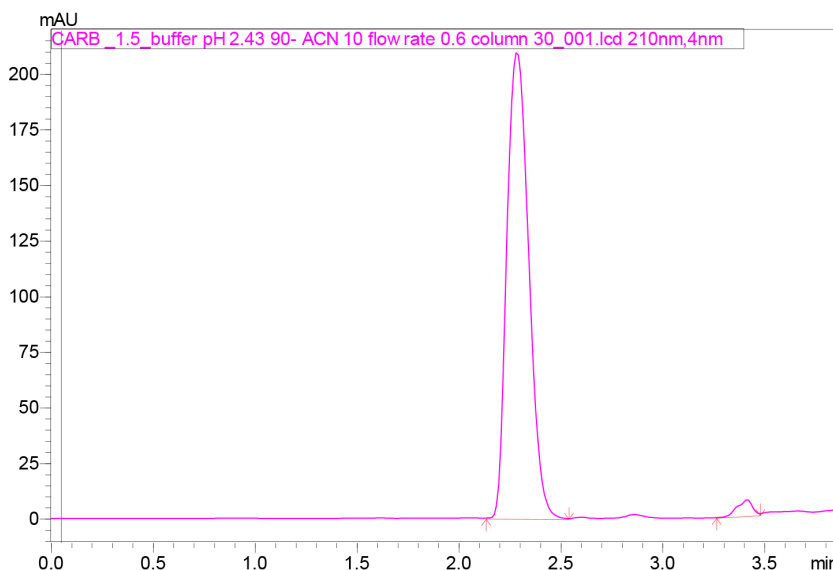


Рис. 1. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (10 %) і буфером KPF<sub>6</sub> 40 мМ з рН 2,43 (90 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм

Таблиця 2 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,967	1597203	291560	93,422	1,269	0,000	–	5308	28,258	–
2	3,507	112456	20243	6,578	–	0,182	0,000	9471	15,838	3,515
Разом		1709659	311802	100,000						

Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5

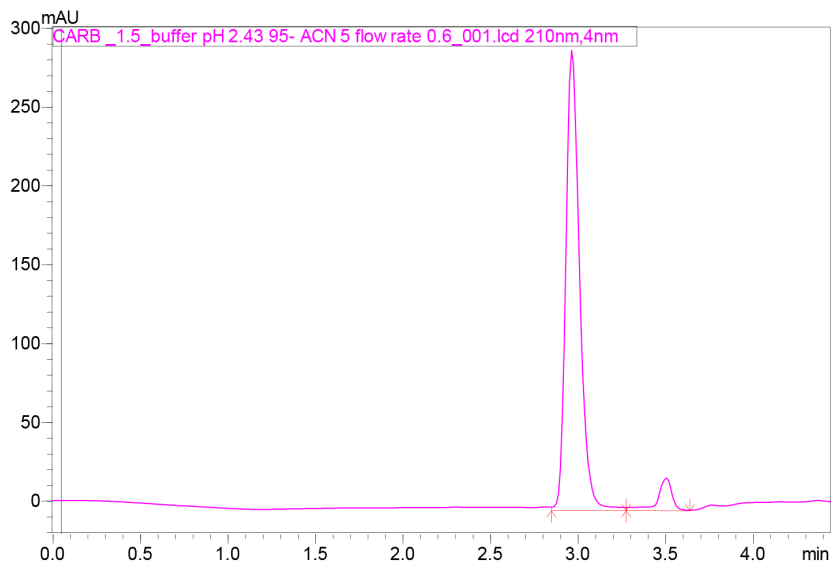


Рис. 2. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з АСН (5 %) і буфером КРF<sub>6</sub> 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм

Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6 column 35\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5

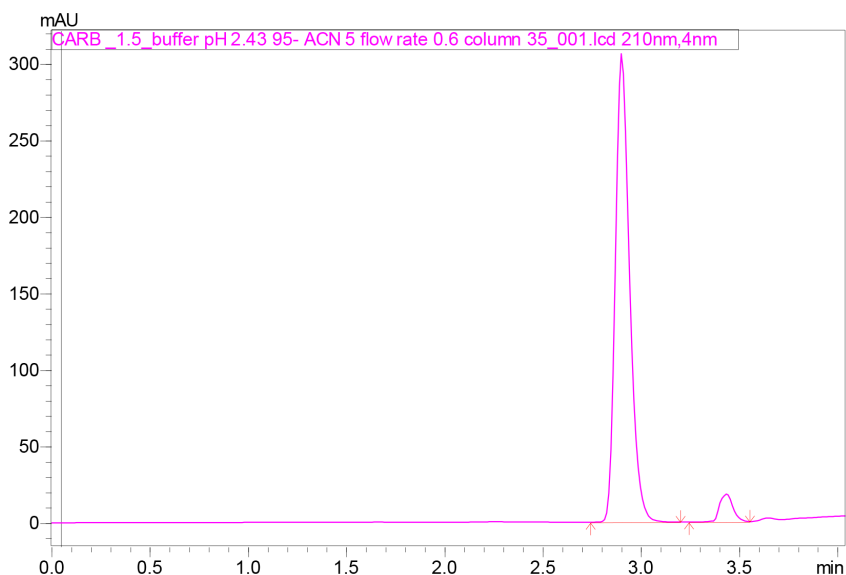


Рис. 3. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з АСН (5 %) і буфером КРF<sub>6</sub> 40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм

Таблиця 3 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 3

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	НЕТР (USP)	Resolution (USP)
1	2,903	1550679	306145	94,767	1,270	0,000	–	5695	26,337	–
2	3,437	85619	18097	5,233	1,158	0,184	0,000	9237	16,240	3,597
Разом		1636298	324242	100,000						

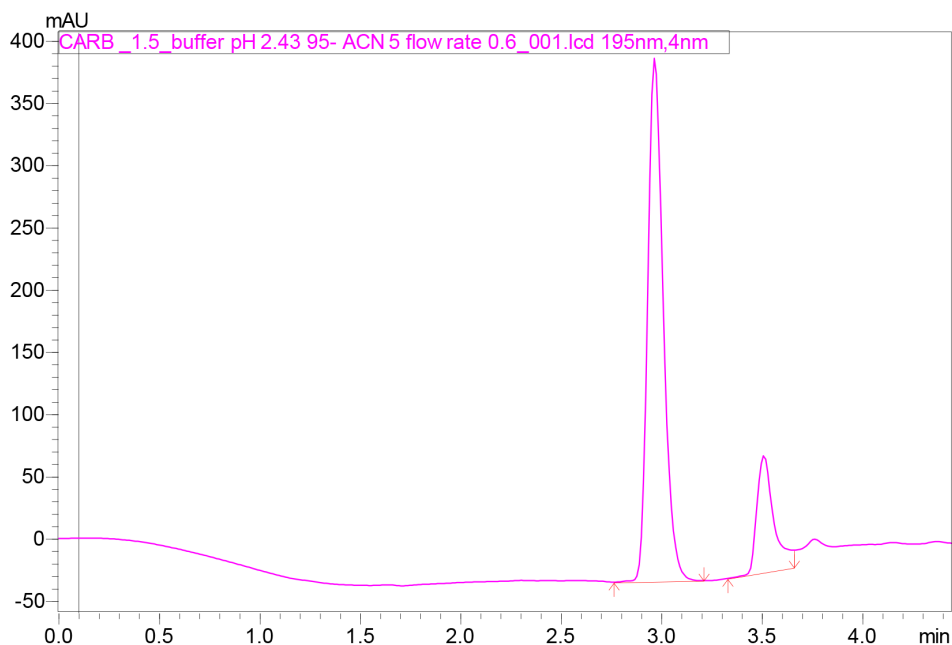
об'єм інжекції – 5 мкл. УФ-детектування проводилося за довжини хвилі 195 нм.

Приготування стандартних робочих розчинів

Розчиняють субстанцію в суміші розчинників і розводять сумішшю розчинників,

рухомою фазою, унаслідок чого отримують тестовий розчин із концентрацією 0,1 мг/мл. Криві калібрування були побудовані в координатах залежності площ піків і концентрації аналізованої речовини в мкг/мл (діапазон – 15–90).

Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5



Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5

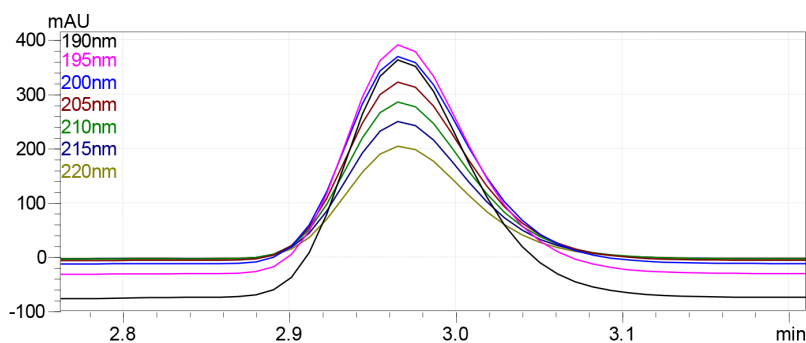
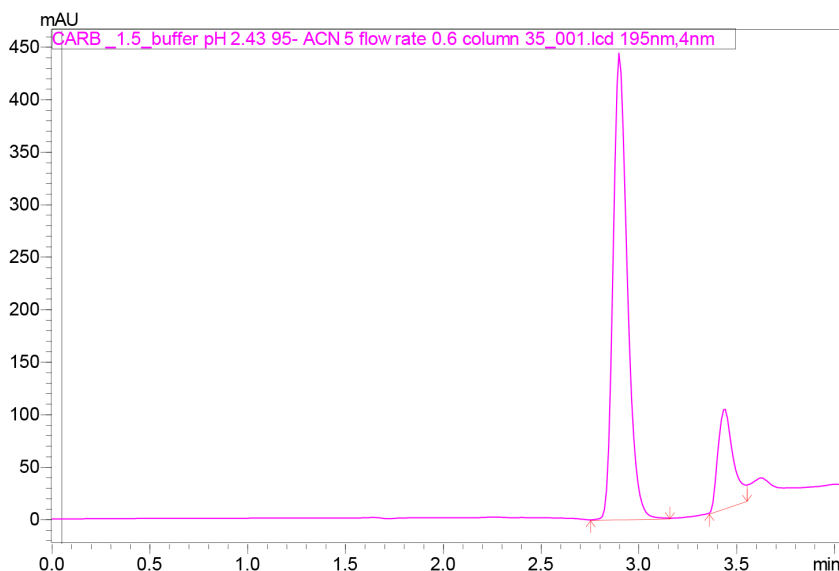


Рис. 4. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з АСН (5 %) і буфером КРF<sub>6</sub> 40 мм з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Теорія посилення взаємодії між аналітом і лігандом на оберненофазових колонках C-18 або C-8 припускає, що хаотропні аніони забезпечують кращу експозицію прихованих гідрофобних ділянок молекул до їхніх поверхонь, тим самим посилюючи гідрофобні сили між основним N-вмісним аналітом та алкілованою фазою. Узагальнений ефект цих взаємодій – це збільшення часу утримування та ємності утримування розділювальних молекул. Попередні експерименти показали, що ці взаємодії є більш інтенсивними, коли як рухома фаза використовується ACN, що, за припущенням, утворює товстіший багаточастинковий шар на стаціонарній фазі. Іншою важливою перевагою застосування солей

хаотропних аніонів у складі рухомої фази є покращення симетрії піків. Це можна досягти використанням низьких кількостей ACN (5–10 %) і високих кількостей буферного розчину 40–50 мМ, одного з найсильніших хаотропів за теорією Гофмейстера  $KPF_6$  (рН 2,3–2,5), у складі рухомої фази на колонках C18 або C8. Нами розпочато попередні дослідження з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ  $KPF_6$  (рН 2,43) та ACN (90:10) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм (рис. 1). У таблиці 1 представлено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 1. Час утримування

Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6 column 35\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5



Datafile Name: CARB\_1.5\_buffer pH 2.43 95- ACN 5 flow rate 0.6 column 35\_001.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 1.5

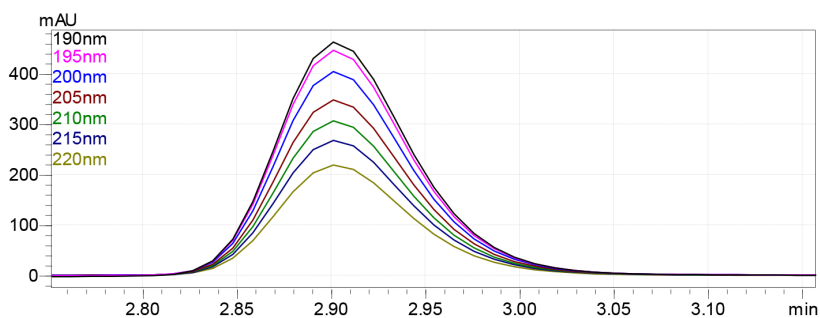


Рис. 5. Хроматограма карбоплатину (0,1 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером  $KPF_6$  40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв

карбоплатину становив 2,29 хв. На наступному етапі нами апробовано підхід з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ  $KPF_6$  (рН 2,43) та ACN (95:5) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм (рис. 2). У таблиці 2 представлено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 2. Час утримування карбоплатину становив 2,97 хв. Параметри придатності хроматографічних систем є задовільними для обох підходів, проте кращі значення отримано з використанням співвідношення компонентів рухомої фази 40 мМ  $KPF_6$  (рН 2,43) та ACN (95:5). Важливим є вибір температури колонки. Ми працювали на 30 °С, проте вирішили апробувати й температуру 30 °С. На рис. 3 представлено хроматограму розчину карбоплатину, отриману з використанням рухомої фази – буферного розчину 40 мМ  $KPF_6$  (рН 2,43) та ACN (95:5) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), швидкість потоку рухомої фази – 0,6 мл/хв, температура

колонки – 35 °С, детектування за довжини хвилі 210 нм. У таблиці 3 наведено параметри придатності хроматографічної системи до рис. 3. Час утримування карбоплатину становив 2,90 хв.

Як впливає з рис. 2, 3 та таблиць 2, 3, оптимальними є обидві температури, проте ми вибрали 30 °С. рН 2,43 буферного розчину  $KPF_6$  (40 мМ) є відмінним, проте нами досліджено й інші значення рН. У цьому дослідженні оптимальною довжиною хвилі детектування є 195–210 нм. Ми розпочали експерименти з 210 нм, проте рис. 4 вказує на те, що оптимальною є довжина хвилі детектування 195 нм.

Проаналізовано також вказані вище хроматографічні умови і за температури колонки 35 °С, довжини хвилі детектування 195 нм (рис. 5, таблиця 4).

За результатами численних досліджень встановлено оптимальні хроматографічні умови визначення карбоплатину в лікарському засобі: хроматографічна колонка Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), рухома фаза – 5 % ACN та 95 % буферного

Таблиця 4 – Параметри придатності хроматографічної системи до рис. 5

Пік	Час утримування, хв	Площа	Висота	Площа, %	Tailing F.	k'	Separation	NTP (USP)	HETP (USP)	Resolution (USP)
1	2,903	2253268	443806	81,254	1,268	0,000	–	5672	26,446	–
2	3,441	519859	94109	18,746	–	0,185	0,000	8198	18,298	3,514
Разом		2773126	537914	100,000						

Datafile Name: CARB\_90\_method 5 ACN-buffer 95 pH 2.43 flow rate 0,6\_006.lcd  
Sample Name: CARB  
Sample ID: 90

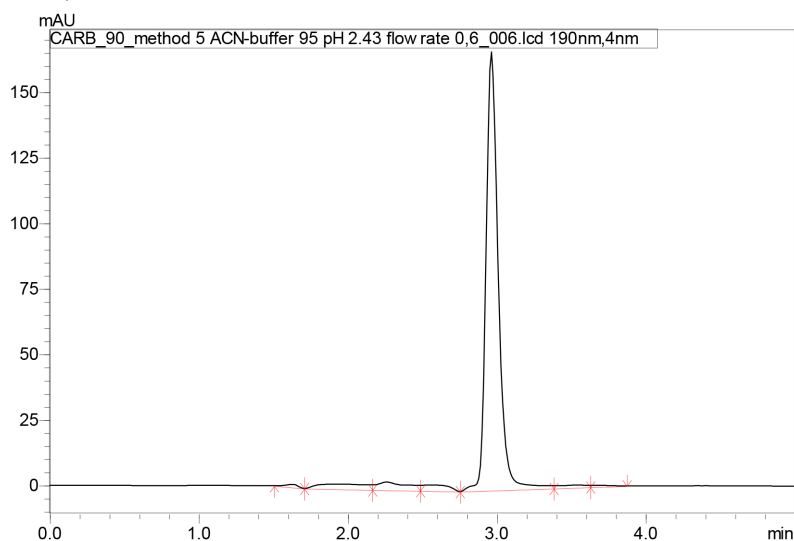


Рис. 6. Хроматограма карбоплатину (0,09 мг/мл) на колонці Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм) з ACN (5 %) і буфером  $KPF_6$  40 мМ з рН 2,43 (95 %), температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв (визначені оптимальні умови)

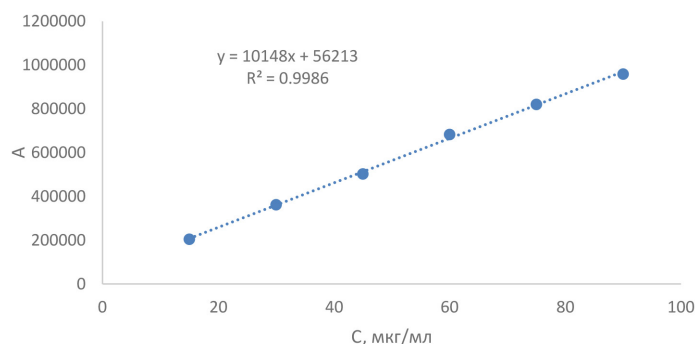


Рис. 7. Графік залежності площі піка від концентрації розчинів карбоплатину

Datafile Name: CARB\_90\_method 5 ACN-buffer 95 pH 2.43 flow rate 0,6\_006.lcd  
 Sample Name: CARB  
 Sample ID: 90

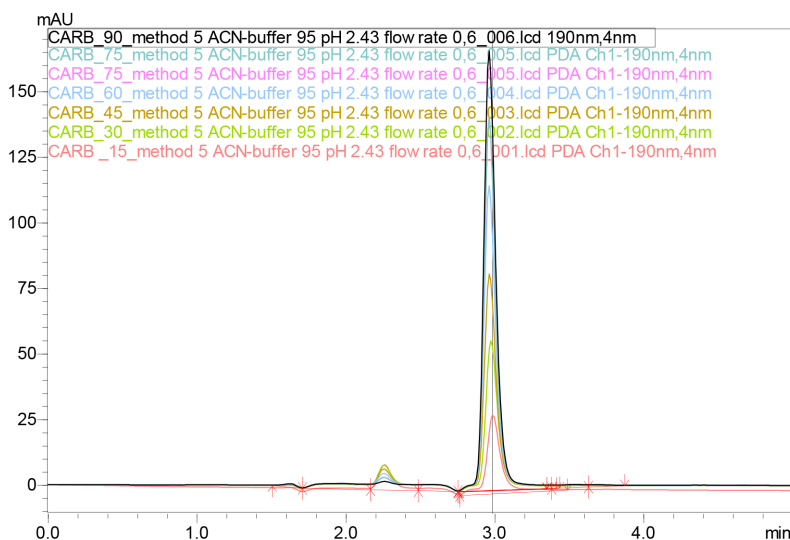


Рис. 8. Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності методики

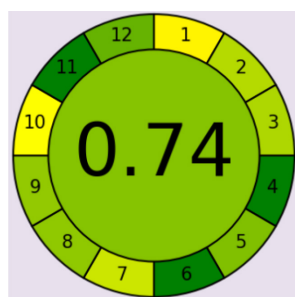
Таблиця 5 – Результати вивчення правильності аналітичної методики

Модельні розчини	Вміст карбоплатину, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	Введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) 100 \%$	Знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) 100 \%$	
$M_1$	80,85	80,23	99,23
$M_2$	80,07	80,95	101,10
$M_3$	80,11	79,65	99,43
$M_4$	100,25	100,64	100,39
$M_5$	100,18	100,55	100,37
$M_6$	100,32	100,87	100,55
$M_7$	119,74	120,60	100,72
$M_8$	120,84	120,08	99,37
$M_9$	120,20	119,54	99,48
Середнє значення, $Z$ , %			100,07
Стандартне відхилення, $S_z$ , %			0,74
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95 \%, 8) \cdot S_z = 2,3060 S_z$ , %			1,71
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2,4 \%$			Виконується ( $1,71 < 2,4$ )
Систематична похибка $\delta =  Z - 100 $ , %			0,07
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta \%$			Виконується ( $0,07 < 0,51$ )
Коректна			Загальний висновок про методику

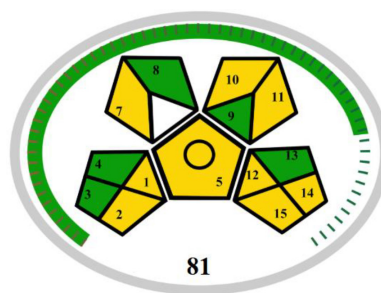
ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 6 – Результати вивчення прецизійності аналітичної методики

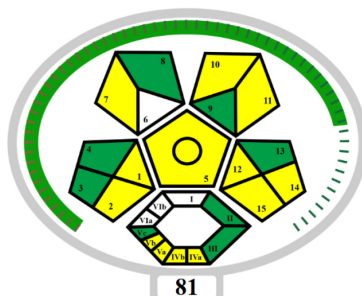
№ розчину	Величина $Z_p$ , %		
	1-й дослід	2-й дослід	3-й дослід
1	100,19	99,82	99,73
2	99,69	100,37	99,82
3	99,93	100,23	100,42
4	100,11	100,04	100,11
5	100,35	99,69	100,10
6	99,90	99,99	99,80
Середнє $Z$ (%)	100,03	100,03	100,00
$RSD_x$ , %	0,24	0,25	0,26
Відносне стандартне відхилення, $RSD_z$ (%)	0,25		
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z$	0,25 ≤ 2,4		
Критичне значення збіжності результатів $\Delta_{As}$ , %	2,4		



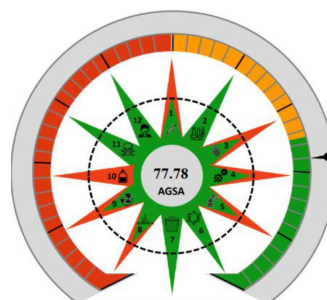
a



б



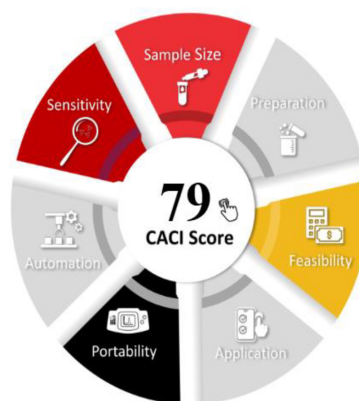
в



г



д



е

Рис. 9. Результати вивчення екологічності розробленої ВЕРХ-методики визначення карбоплатину інструментами AGREE (A), MoGAPI (B), Complex MoGAPI (C), AGSA (D), CaFRI (E) та CACI (F)

розчину  $KPF_6$  (40 мМ) з рН 2,43, температура колонки – 30 °С, детектування за довжини хвилі 195 нм, швидкість потоку – 0,6 мл/хв. Типову хроматограму за вказаних умов наведено на рис. 6.

Валідацію аналітичної методики проводили за такими валідаційними характеристиками, як лінійність, робастність, правильність і прецизійність [15]. Лінійність вивчали в діапазоні 15–90 мкг/мл методом найменших квадратів і розраховували рівняння регресії з коефіцієнтом кореляції. Результати вивчення лінійності наведено на рис. 7. Хроматограми, отримані за умов вивчення лінійності, представлено на рис. 8.

Межа виявлення (МВ) становила 3,58 мкг/мл, межа кількісного визначення (МКВ) – 10,86 мкг/мл.

Для вивчення валідаційного параметра «правильність» готували модельні зразки з точними концентраціями АФІ карбоплатину в діапазоні 80–120 %. Результати вивчення правильності та прецизійності наведено в таблицях 5, 6. Отримані результати відповідають критеріям прийнятності.

Уникнення використання токсичних розчинників, зменшення кількості ацетонітрилу (співвідношення до буферного розчину – 5 до 95) у складі рухомої фази, експресний аналіз і повільна швидкість подачі рухомої

фази (а отже, менші відходи), ізократичне елюювання та мінімізація пробопідготовки дали змогу отримати «зелений» аналіз, що підтверджено найсучаснішими інструментами вивчення «зеленості» AGREE (бал 0,74), MoGAPI (бал 81), Complex MoGAPI (бал 81), AGSA (бал 77,78), CaFRI (бал 82) та CACI (бал 79) (рис. 9) [16–21].

**ВИСНОВКИ.** Розроблено експресну, просту, відтворювану та «зелену» ВЕРХ-методику визначення карбоплатину в лікарських засобах із використанням солей хаотропних аніонів. Запропонована ВЕРХ-методика дає змогу провести хроматографування та кількісне визначення карбоплатину на С18 октадецилсилільній колонці та без застосовування іон-парних реагентів. Проведено валідацію аналітичної методики. Методика є лінійною в діапазоні концентрацій від 15 до 90 мкг/мл. Інструментами вивчення екологічності аналітичних методик AGREE, MoGAPI, Complex MoGAPI, AGSA, CaFRI та CACI показано, що розроблена ВЕРХ-методика є «зеленою». Крім того, вказана методика є економічно вигідною та доступною для лабораторій, які не мають в арсеналі дороговартісних специфічних хроматографічних колонок (наприклад, амінопропільних).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Zhang C., Xu C., Gao X., Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*. 2022. Vol. 12, No. 5. P. 2115.
2. PubChem – National Library of Medicine. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2025).
3. European Pharmacopoeia. 11th ed. (2022). URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-11th-edition> (accessed on 22 March 2025).
4. The United States Pharmacopoeia (2021). The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopoeial Convention, Inc.; URL: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2025).
5. British Pharmacopoeia Commission. *British Pharmacopoeia*. London : TSO, 2025.
6. Zhao Z., Tepperman K., Dorsey J. G., Elder R. C. Determination of cisplatin and some possible metabolites by ion-pairing chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1993. Vol. 615, No. 1. P. 83–89.
7. Kaushik K. H., Sripuram V. K., Bedada S., Reddy N. Y., Priyadarshini G. I., Devarakonda K. R. A simple and sensitive validated HPLC method for

quantitative determination of cisplatin in human plasma. *Clinical Research and Regulatory Affairs*. 2010. Vol. 27, No. 1. P. 1–6.

8. Ramos Y., Hernández C., Fernandez L. A., Bataller M., Veliz E., Small R. Optimization of a HPLC procedure for simultaneous determination of cisplatin and the complex cis, cis, trans-diamminedichlorodihydroxoplatinum (IV) in aqueous solutions. *Química Nova*. 2011. Vol. 34. P. 1450–1454.

9. Toro-Cyrdoва A., Ledezma-Gallegos F., Mondragon-Fuentes L., Jurado R., Medina L. A., Páez-Rojas J. M., García-Lopez P. Determination of liposomal cisplatin by high-performance liquid chromatography and its application in pharmacokinetic studies. *Journal of chromatographic science*. 2016. Vol. 54, No. 6. P. 1016–1021.

10. Mittal A., Chitkara D., Kumar N. HPLC method for the determination of carboplatin and paclitaxel with cremophor EL in an amphiphilic polymer matrix. *Journal of chromatography B*. 2007. Vol. 855, No. 2. P. 211–219.

11. Rama Devi. P., Rambabu K. Rapid determination of carboplatin and docetaxel using RP-HPLC with PDA detector. *International journal of applied pharmaceuticals*. 2022. Vol. 14, No. 2. P. 186–192.

12. Hayat M. M., Sohail M., Ashraf, M. Spectrophotometric determination of cisplatin, carboplatin

and oxaliplatin in pure and injectable dosage forms. *Biomed. Res.* 2019. Vol. 3. P. 557–562.

13. Kazakevich Y. V., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons. 2006.

14. Horyn M., Piponski M., Zaremba T., Kucher T., Balkanov S. K., Stoimenova T. B., Logoyda L. Application of salts of chaotropic anions in the development of hplc methods for the determination of meldonium in dosage forms. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023. Vol. 41. P. 14–22.

15. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. ICH\_Q2(R2)\_Guideline\_2023\_1130.pdf (accessed on 24 June 2025).

16. Pena-Pereira F., Wojnowski W., Tobiszewski M. AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*. 2020. Vol. 92, No. 14. P. 10076–10082.

17. Mansour F. R., Płotka-Wasyłka J., Locatelli M. Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the

assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*. 2024. Vol. 5, No. 3. P. 451–457.

18. Mansour F. R., Omer K. M., Płotka-Wasyłka J. A total scoring system and software for complex modified GAPI (ComplexMoGAPI) application in the assessment of method greenness. *Green Analytical Chemistry*. 2024. Vol. 10. P. 100126.

19. Mansour F. R., Bedair A., Belal F., Magdy G., Locatelli M. Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2025. Vol. 46. P. 102051.

20. Mansour F. R., Nowak P. M. Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI) as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*. 2025. Vol. 19, No. 1. P. 121.

21. Mansour F.R., Bedair A., Locatelli M. Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*. 2025. Vol. 14. P. 100164.

#### REFERENCES

1. Zhang, C., Xu, C., Gao, X., & Yao, Q. (2022). Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, 12 (5), 2115.

2. PubChem – National Library of Medicine. Retrieved from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2025).

3. European Pharmacopoeia. 11th ed. (2022) Retrieved from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (accessed on 22 March 2025).

4. The United States Pharmacopeia (2021). The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc. Retrieved from: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2025).

5. British Pharmacopoeia Commission (2025). British Pharmacopoeia. London: TSO.

6. Zhao, Z., Tepperman, K., Dorsey, J. G., & Elder, R. C. (1993). Determination of cisplatin and some possible metabolites by ion-pairing chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 615 (1), 83–89.

7. Kaushik, K. H., Sripuram, V. K., Bedada, S., Reddy, N. Y., Priyadarshini, G. I., & Devarakonda, K. R. (2010). A simple and sensitive validated HPLC method for quantitative determination of cisplatin in human plasma. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 27 (1), 1–6.

8. Ramos, Y., Hernández, C., Fernandez, L. A., Bataller, M., Veliz, E., & Small, R. (2011). Optimization of a HPLC procedure for simultaneous determination of cisplatin and the complex cis, cis, trans-diamminedichlorodihydroxoplatinum (IV) in aqueous solutions. *Quimica Nova*, 34, 1450–1454.

9. Toro-Cyrdoval, A., Ledezma-Gallegos, F., Mondragon-Fuentes, L., Jurado, R., Medina, L. A., Páez-Rojas, J. M., & Garcia-Lopez, P. (2016). Determination of liposomal cisplatin by high-performance liquid

chromatography and its application in pharmacokinetic studies. *Journal of chromatographic science*, 54 (6), 1016–1021.

10. Mittal, A., Chitkara, D., & Kumar, N. (2007). HPLC method for the determination of carboplatin and paclitaxel with cremophorEL in an amphiphilic polymer matrix. *Journal of chromatography B*, 855 (2), 211–219.

11. Rama Devi., P, Rambabu, K. (2022). Rapid determination of carboplatin and docetaxel using RP-HPLC with PDA detector. *International journal of applied pharmaceuticals*, 14 (2), 186–192.

12. Hayat, M. M., Sohail, M., & Ashraf, M. (2019). Spectrophotometric determination of cisplatin, carboplatin and oxaliplatin in pure and injectable dosage forms. *Biomed. Res*, 3, 557–562.

13. Kazakevich, Y. V., & Lobrutto, R. (2006). *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons.

14. Horyn, M., Piponski, M., Zaremba, T., Kucher, T., Balkanov, S. K., Stoimenova, T. B., Logoyda, L. (2023). Application of salts of chaotropic anions in the development of hplc methods for the determination of meldonium in dosage forms. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 1 (41), 14–22.

15. ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R2), Geneva. 2023. ICH\_Q2(R2)\_Guideline\_2023\_1130.pdf (accessed on 24 June 2025).

16. Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., & Tobiszewski, M. (2020). AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*, 92 (14), 10076–10082.

17. Mansour, F. R., Płotka-Wasyłka, J., & Locatelli, M. (2024). Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*, 5 (3), 451–457.

18. Mansour, F. R., Omer, K. M., & Płotka-Wasyłka, J. (2024). A total scoring system and software for complex modified GAPI (ComplexMoGAPI) application in the assessment of method greenness. *Green Analytical Chemistry*, 10, 100126.

19. Mansour, F. R., Bedair, A., Belal, F., Magdy, G., & Locatelli, M. (2025). Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 46, 102051.

20. Mansour, F. R., & Nowak, P. M. (2025). Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI)

as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*, 19 (1), 121.

21. Mansour, F. R., Bedair, A., & Locatelli, M. (2025). Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*, 14, 100164.

Адреса для листування: druchok\_maiv@tdmu.edu.ua

M. I. Druchok, L. S. Logoyda  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF CARBOPLATIN IN MEDICINAL PRODUCTS USING SALTS OF CHAOTROPIC ANIONS

### Summary

**Introduction.** The leading pharmacopoeias of the world regulate the chromatographic determination of carboplatin using an amino-propyl chromatographic column (class L8). The scientific literature describes the development of HPLC methods for pharmaceuticals based on carboplatin in various matrices using ion-pair reagents, however, such methods have certain drawbacks. In our work, we propose the application of chaotropic anion salts as a promising approach for the development of HPLC methods for carboplatin in pharmaceuticals, which will improve retention and peak shape.

**The aim of the work** was to develop the express, simple, reproducible, and green method for the determination carboplatin in pharmaceuticals using salts of chaotropic anions.

**Research Methods.** For the study, a Shimadzu LC-2050 C liquid chromatograph with DAD was used to obtain chromatograms and integrate results using LabSolutions software. The chromatographic column was a Luna C18 (100 × 4.6 mm, 3 μm) purchased from Phenomenex. The Carboplatin API (purity ≥ 99 %, HPLC) was procured from Sigma-Aldrich Chemicals Co., and the medicinal product "Ebeve" (10 mg/ml, Austria) was used.

**Results and Discussion.** An important advantage of using salts of chaotropic anions in the mobile phase is the improvement of peak symmetry and retention, as well as the reduction of analysis time. This can be achieved by using low amounts of acetonitrile (ACN) (5–10 %) and high amounts of a buffer solution of 40–50 mM of one of the strongest chaotropes according to Hofmeister's theory,  $KPF_6$  (pH 2.3–2.5) in the mobile phase on C18 or C8 columns. Optimal chromatographic conditions for the determination of carboplatin in a medicinal product have been established: chromatographic column Luna C18 (100 × 4.6 mm, 3 μm), mobile phase – 5 % ACN and 95 % buffer solution  $KPF_6$  (40 mM) pH 2.43, column temperature – 30 °C, detection at a wavelength of 195 nm, flow rate – 0.6 ml/min. Linearity was studied in the range of 15–90 μg/ml using the method of least squares, and the regression equation ( $y = 10148x + 56213$ ) was calculated with a correlation coefficient ( $R^2 = 0.9986$ ). The limit of detection (LOD) was 3.58 μg/ml, and the limit of quantification (LOQ) was 10.86 μg/ml. The most modern tools for studying greenness AGREE (score 0.74), MoGAPI (score 81), Complex MoGAPI (score 81), AGSA (score 77.78), CaFRI (score 82), and CACI (score 79) have established that the proposed HPLC method is ecologically safe.

**Conclusions.** Express, simple, reproducible, and green HPLC method for the determination of carboplatin in pharmaceutical products has been developed using chaotropic anion salts. The proposed HPLC method enables the chromatography and quantitative determination of carboplatin on a C18 octadecylsilane column without the use of ion-pair reagents.

KEY WORDS: carboplatin; quantitative determination; HPLC; chaotropes; greenness.

Стаття надійшла до редакції 11.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



## ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ ДЛЯ РОЗРОБКИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БІСОПРОЛОЛУ ФУМАРАТУ ЗА РЕАКЦІЄЮ З БРОМКРЕЗОЛОВИМ ПУРПУРОВИМ У ТАБЛЕТКАХ «БІСОПРОЛ»

**Вступ.** Гіпертонія – захворювання, яке здебільшого супроводжується інвалідністю й високою смертністю. Провівши аналіз протоколів її лікування, лікарі надають перевагу лікарським засобам (ЛЗ) із групи бета-адреноблокаторів. Альтернативним у призначеннях часто є ЛЗ «Бісопрол». Хоча на сьогодні відомі різні методики його визначення, існує ряд проблем у їх розробці, зазвичай випробування є досить складними, займають багато часу та потребують використання дорогого обладнання та відповідних реактивів. Також спостерігається значна невідповідність основним валідаційним характеристикам. Усе це нашоує на доречність розробки нової методики кількісного визначення бісопрололу, яка буде швидкою, простою та економічно доцільною, а також відповідатиме принципам екологічності та безпечності.

Пробопідготовка є надважливим етапом у проведенні фармацевтичного аналізу, необхідна як для покращення метрологічних характеристик випробування, підвищення точності, правильності, розширення діапазону досліджуваних значень концентрацій, так і для зменшення похибки результатів випробування. Тому **метою роботи** є оптимізація умов пробопідготовки для розробки спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату за реакцією з бромкрезоловим пурпуровим (БКП) у таблетках «Бісопрол».

**Методи дослідження.** Для проведення спектрофотометрії використовували спектрофотометр Shimadzu UV1800 (Японія) із застосуванням програмного пакета UVProbe 2.62, кварцові кювети (1 см), таблетки «Бісопрол» 10 мг, фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) бісопрололу фумарату (Sigma-Aldrich), ацетонітрил Р (Сфера Сім ч.д.а.), бромкрезоловий пурпуровий (Sigma – Aldrich).

**Результати й обговорення.** Враховуючи розчинність бісопрололу фумарату, утворення його йонного асоціату з барвником БКП, доступність і нетоксичність розчинників, було проаналізовано різні розчинники, серед яких було вибрано ацетонітрил, який має відмінні властивості щодо поглинання досліджуваного препарату з БКП та виступає альтернативним для подальших досліджень. Після цього отримували вилучення із ФСЗ та таблеток «Бісопрол» 10 мг за реакції взаємодії з БКП, які пізніше спектрофотометрували й отримували відповідні спектри поглинання. Вони показують інтенсивно виражені смуги поглинання у видимій ділянці спектра за довжини хвилі 402 нм. Також підібрано оптимальні концентрації приготовлених розчинів і вивчено їхню стабільність.

**Висновки.** За результатами проведених досліджень оптимізовано умови пробопідготовки для розробки коректної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БКП у таблетках «Бісопрол» (розчинник – ацетонітрил Р, довжина хвилі – 402 нм, оптимальна концентрація розчинів –  $7,0 \times 10^{-4}$  М, стабільність приготовлених розчинів протягом 45 хвилин, що відповідає вимогам Національної фармакопеї.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пробопідготовка; бісопрололу фумарат; бромкрезоловий пурпуровий; таблетки; спектрофотометрія.

ВСТУП. В Україні на сьогодні гіпертонія є важливою медико-соціальною проблемою [1–6], що потребує широкого вивчення й аналізу з боку фармацевтичної розробки оригінальних ЛЗ для її лікування.

Аналіз джерел літератури [5] показав, що для лікування гіпертонічної хвороби (ГХ) приписують як монопрепарати, так і в комбінації з іншими АФІ.

Для корекції артеріального тиску лікарями часто в рецептах виписано вітчизняний

препарат «Бісопрол», у якому АФІ виступає бісопрололу фумарат, який є високоселективним блокатором  $\beta_1$  – адренорецепторів [7]. З огляду на аналіз наукових праць відомо багато методик його визначення, які представлені різними методами аналізу, проте існує ряд проблем у їх розробці [8; 9], а саме: випробування є складними, довготривалими, потребують використання як дороговартісного обладнання, так і спеціальних реактивів. Крім цього, відмічено невідповідність основним валідаційним характеристикам і відповідним настановам якості. Тому

потрібно розробити нову методику кількісного визначення бісопрололу фумарату в готових лікарських засобах. Це дасть можливість належно проводити забезпечення якості як АФІ бісопрололу, так і готових ЛЗ на його основі контрольними-аналітичними лабораторіями та хіміко-фармацевтичними підприємствами.

МЕТОЮ ДОСЛІДЖЕННЯ є оптимізація умов пробопідготовки для розробки спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату за реакцією з БКП у таблетках «Бісопрол».

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Видима спектрофотометрія, програмне забезпечення Software UV-Probe 2.62, ФСЗ бісопрололу фумарату (Sigma Aldrich 98 %, ВЕРХ), таблетки «Бісопрол 10 мг», «Фармак» (Україна), БКП (Sigma – Aldrich).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для виконання експерименту використовували двопробневі сканувальний спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Японія) із застосуванням програмного пакета UV-Probe 2.62, кварцові кювети (1 см), лабораторні електронні ваги RAD wAG AS 200/C, мірний посуд класу А.

Для розробки нової методики кількісного визначення досліджуваного АФІ потрібно насамперед підібрати оптимальні умови пробопідготовки, що стосуються приготування випробовуваного, компенсаційного розчинів, їх концентрацій, стабільності в часі, оптимального розчинника, довжини хвилі тощо. Завдяки оптимізації умов пробопідготовки ми підвищимо точність і правильність розробленої методики, розширимо діапазон досліджуваних значень концентрацій, а отже, зменшимо похибку результатів цього випробування.

У хімічному відношенні бісопрололу фумарат є (RS)-1-[4-[[2-(1-Метилетокси)етокси]метил]фенокси]-3-[(1-метилетил)аміно]пропан-2-ол фумарат, структурна формула якого наведена нижче [7].

У попередній нашій роботі [10] було показано поведінку досліджуваного АФІ із сульфогфталейновими барвниками, а саме: крезоловий червоний, тимоловий синій, бромкрезоловий зелений, бромтимоловий синій, бромкрезоловий пурпуровий. Як результат цього випробування відмічено максимальну абсорбцію в досліджуваному розчині з бромкрезоловим пурпуровим. Ба

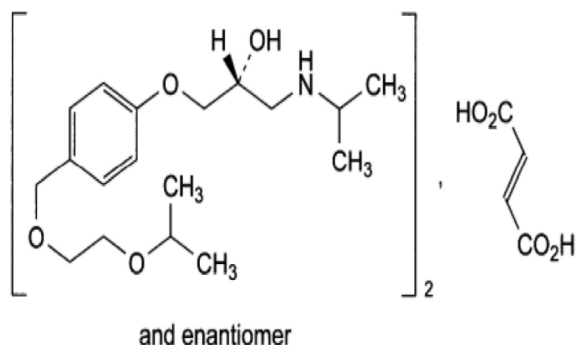


Рис. 1. Хімічна структура бісопрололу фумарату

більше, утворений іонний асоціат виявився стабільним, тому БКП було вибрано для проведення подальших експериментів [10]. Для того щоб дослідити утворення іонних асоціатів між АФІ та БКП, а також стабільність одержаного забарвленого комплексу, відмічено вплив кислотності середовища та супутніх реагентів. Тому для цього варто дослідити стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів реакції. Враховуючи розчинність бісопрололу фумарату та нешкідливість і доступність розчинників, ми вивчили їх поведінку з бісопрололом і БКП, які утворили забарвлені комплекси-іонні асоціати, які поглинали за відповідної довжини хвилі. У підсумку оптимальним розчинником було вибрано ацетонітрил Р, який показав відмінні властивості щодо поглинання бісопрололу фумарату, тому його було використано для наступних досліджень. Після цього одержали ацетонітрильні вилучення з досліджуваних таблеток, які пізніше спектрофотометрували й отримали абсолютні значення абсорбції (рис. 2).

Аналізуючи рис. 2, найбільший показник світлопоглинання було отримано за утворення комплексу бісопрололу фумарату з концентрацією  $1,57 \times 10^{-5}$  М з БКП ( $2,25 \times 10^{-4}$  М) у середовищі ацетонітрилу Р. За використання метанолу Р світлопоглинання не спостерігалось.

На рисунку 3 представлено утворений продукт реакції бісопрололу фумарату з БКП.

Як видно з отриманих спектрів світлопоглинання, відмічено максимум поглинання за довжини хвилі 402 нм, яку і вибрали оптимальною для наступних випробувань. Також за результатами експериментальних досліджень підібрали оптимальну концентрацію досліджуваних розчинів, беручи до уваги молекулярну масу бісопрололу фумарату, барвник БКП та середню масу досліджуваних таблеток відповідно. Після цього вивчали стехіометричні співвідношення

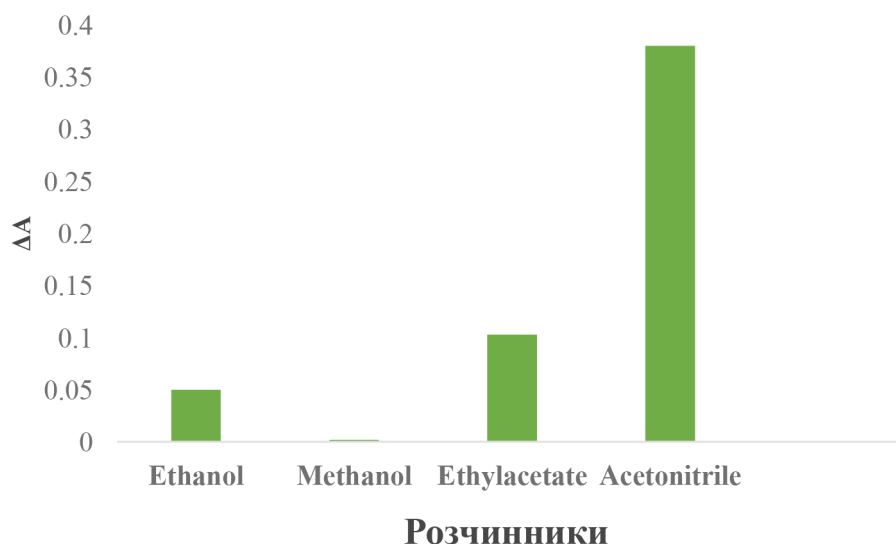


Рис. 2. Абсолютні значення абсорбції бісопрололу фумарату з БКП у різних розчинниках

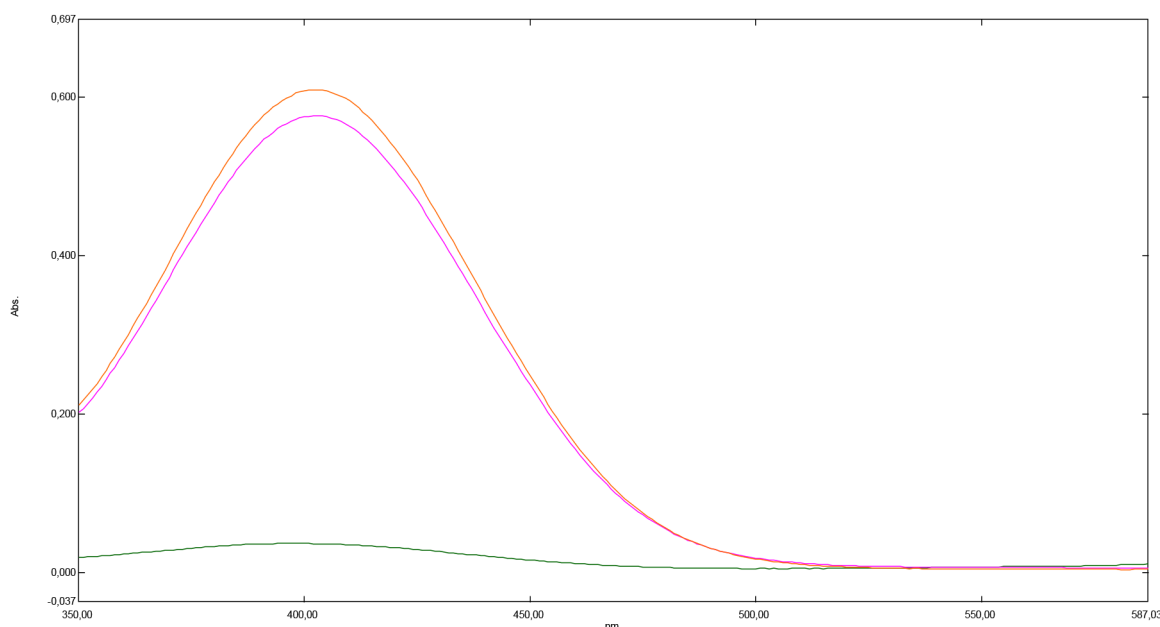


Рис. 3. Електронні спектри поглинання утвореного продукту взаємодії бісопрололу фумарату  $2,48 \times 10^{-5}$  М з БКП  $2,25 \times 10^{-4}$  М проти ацетонітрилу (червоний), проти БКП (рожевий) та БКП проти ацетонітрилу (зелений)

реагуючих компонентів взаємодії методом Жоба (метод ізомолярних серій). Для цього готували розчини бісопрололу фумарату та БКП в ідентичних молярних концентраціях, які пізніше використовували шляхом безперервної зміни об'ємів. Також було встановлено оптимальну ізомолярну концентрацію для випробуваних розчинів, що становила  $7,0 \times 10^{-4}$  М. Для визначення стехіометричних коефіцієнтів реакції приготувані розчини бісопрололу та БКП змішували, починаючи від 0,2 мл досліджуваного ЛЗ і 0,8 мл приготовленого розчину БКП, компенсаційний розчин – 0,8 мл БКП. Потім вимірювали

кількості досліджуваних розчинів: 0,3 – 0,7; 0,4 – 0,6; 0,5 – 0,5; 0,6 – 0,4; 0,7 – 0,3; 0,8 – 0,2. Після цього проводили вимірювання світлопоглинання приготованих розчинів за довжини хвилі 402 нм.

На рисунку 4 показано графік залежності світлопоглинання від складу розчинів бісопрололу фумарату та БКП з концентрацією  $7,0 \times 10^{-4}$  М.

Аналізуючи (рис. 4), варто акцентувати на максимумі абсорбції за взаємодії ізомолярних розчинів бісопрололу фумарату та БКП у співвідношенні досліджуваних об'ємів у кількості 0,5 мл – 0,5 мл. Як результат

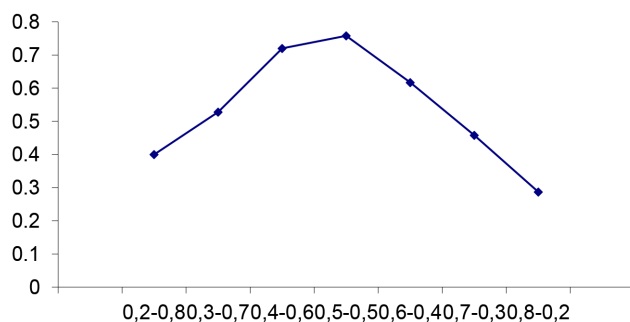


Рис. 4. Графік залежності світлопоглинання від складу розчинів бісопрололу та БКП з концентрацією  $7,0 \times 10^{-4}$  М

проведеного експерименту є встановлення оптимального співвідношення реагуючих компонентів (1:1) утвореного забарвленого комплексу бісопрололу фумарат – БКП. Крім цього, було обчислено показники чутливості цієї реакції, а саме: молярний показник світлопоглинання ( $\epsilon$ )  $2,4 \times 10^4$ , питома поглинання ( $a$ ) –  $5,44 \times 10^{-2}$  та коефіцієнт Сендела ( $Ws$ ) – 0,0184. Усі зазначені вище показники відповідають вимогам Національної фармакопеї.

Для оптимізації пробопідготовки потрібно також дослідити стабільність досліджуваних розчинів, адже коли вони нестабільні, то й розробка аналітичної методики кількісного визначення стає неможливою або можливою за рахунок стабілізаторів тощо. Стабільність приготовлених розчинів вивчали шляхом вимірювання абсорбції впродовж 45 хвилин. З огляду на отримані значення оптичної густини аналізованих розчинів підтверджено, що всі вони є стабільними протягом 45 хвилин [11]. Варто відмітити, що розроблена нами методика кількісного

визначення бісопрололу фумарату за реакцією з БКП у таблетках «Бісопрол» не потребує використання регуляторів рН, додаткових реагентів чи буферних розчинів і може бути використана в рутинному аналізі контролю-аналітичними лабораторіями для підтвердження якості АФІ бісопрололу і ГЛЗ на його основі.

З урахуванням оптимізації умов пробопідготовки нижче представлено редакцію розробленої нами методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БКП у таблетках «Бісопрол».

*Приготування визначуваного розчину таблеток «Бісопрол», 10 мг:* точну наважку порошку розтертих таблеток, еквівалентну 25,00 мг бісопрололу фумарату, поміщують у мірну колбу місткістю 25,00 мл і розчиняють в 15,00 мл ацетонітрилу Р. Після чого доводять до мітки тим самим розчинником і фільтрують розчин фільтрувальною нейловою мембраною товщиною 0,2 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату.

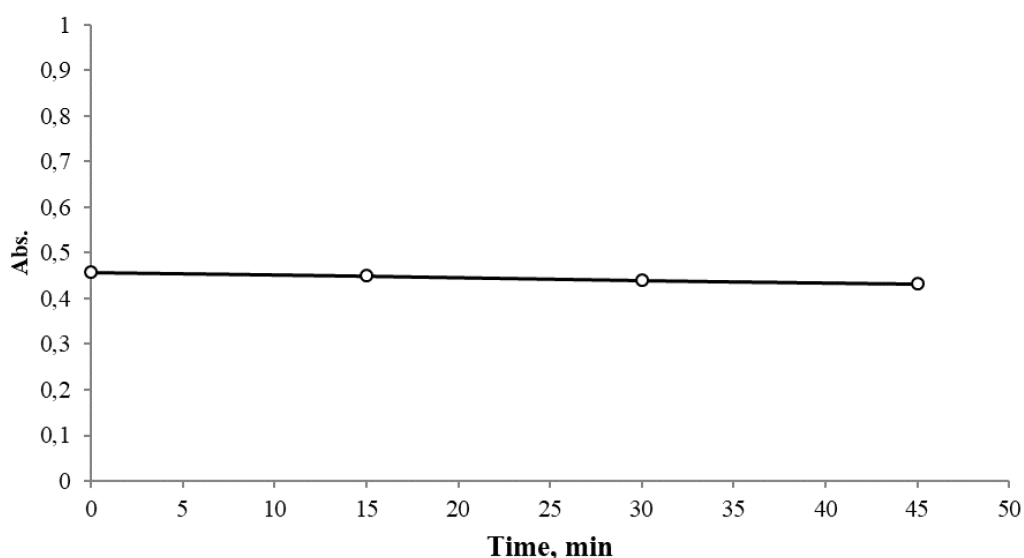


Рис. 5. Графік залежності світлопоглинання бісопрололу фумарату за реакцією з БКП в таблетках «Бісопрол» відносно часу

2,50 мл фільтрату поміщають у колбу місткістю 25,00 мл і доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу на 10,00 мл відбирають 1,0 мл з розведеного розчину таблеток «Бісопрол» і додають 1,0 мл розчину БКП (концентрація  $2,25 \times 10^{-3}$  М) в ацетонітрилі Р, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. Вимірюють світлопоглинання отриманого комплексу бісопрололу фумарату з БКП за довжини хвилі 402 нм проти компенсаційного розчину.

**Приготування ФСЗ бісопрололу фумарату:** 25 мг бісопрололу фумарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р, пізніше доводять ацетонітрилом Р до мітки та перемішують. Після цього 2,5 мл розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл і доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу місткістю 10,00 мл відбирають 1,0 мл приготованого розчину бісопрололу фумарату та 1,0 мл  $2,25 \times 10^{-3}$  М розчину БКП в ацетонітрилі Р і доводять тим самим розчинником до мітки та перемішують.

**Приготування компенсаційного розчину:** 30,40 мг бромкрезолового пурпурового

(БКП) поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р, пізніше доводять до мітки тим самим розчинником.

Наступним етапом дослідження буде проведення валідації розробленої спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БКП у таблетках.

**ВИСНОВКИ.** 1. За результатами проведених досліджень оптимізовано умови прободготовки для розробки методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БКП у таблетках «Бісопрол».

2. Вивчено поведінку препарату «Бісопрол» з БКП в різних органічних розчинниках.

3. Підібрано оптимальний розчинник, оптимальну концентрацію аналізованих розчинів, довжину хвилі.

4. Вивчено стабільність приготовлених розчинів у часі (45 хв), що відповідає вимогам ДФУ.

5. Запропоновано редакцію розробленої методики кількісного визначення досліджуваного АФІ з БКП у таблетках.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Management of Hypertension With a Fixed-Dose (Single-Pill) Combination of Bisoprolol and Amlodipine / U. Gottwald-Hostalek, N. Sun, C. Barho [et al.]. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. 2017. No. 6. P. 9–18.

2. Cardiovascular Diseases (CVDs). URL: [https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_3) (accessed on 22 March 2023).

3. Коваль С. М., Снігурська І. О. Сучасна стратегія лікування артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень у світі нових європейських рекомендацій 2018 року. *Раціональна фармакотерапія*. 2019. № 1, 2 (50–51). С. 11–18.

4. Nandhini S. Essential hypertension-a review article. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014. Vol. 6 (9). P. 305–7.

5. Effects of Celiprolol and Bisoprolol on Blood Pressure, Vascular Stiffness, and Baroreflex Sensitivity / K. Eguchi, S. Hoshide, K. Kario. *American Journal of Hypertension*. 2015. No. 7 (28). P. 858–867.

6. Pinto I. C., Martins D. Prevalence and risk factors of arterial hypertension: A literature review. *Journal of Cardiovascular Medicine and Therapeutics*. 2017. No. 1 (2). P. 1–7.

7. British Pharmacopoeia. The British Pharmacopoeia Secretariat, London. 2009. Vol. 1. P. 10952. URL: <http://www.vek-com.ru/78022.html>

8. Horyn M., Kucher T., Kryskiw L., Poliak O., Zarivna N., Peleshok K., Logoyda L. Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol tartrate in tablets by using bromocresol green. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022. Vol. 5, No. 39. P. 55–63.

9. Horyn M., Kryskiw L., Kucher T., Poliak O., Zarivna N., Zahrychuk H., Korobko D., Peleshok K., Logoyda L. Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol in tablets by using bromophenol blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022. Vol. 6, No. 40. P. 36–42.

10. Ярчук Б., Килюшик І., Журавель С., Поляк О., Зарівна Н. Перспективи розробки методик кількісного визначення бісопрололу з сульфогфталейновими барвниками в готових лікарських засобах. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали Х наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т. А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 109–110.

11. Державна фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-це вид. Харків : Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

## REFERENCES

1. Gottwald-Hostalek, U., Sun, N., Barho, C., Hildemann, S. (2017). Management of Hypertension With a Fixed-Dose (Single-Pill) Combination of Bisoprolol and Amlodipine. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 6, 9–18.
2. Cardiovascular Diseases (CVDs). Retrieved from: [https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_3) (accessed on 22 March 2023).
3. Koval, S., Snihorska I. (2019). Suchasna stratehiia likuvannia arterialnoi hipertenzii ta profilaktyky yii uskladnen u svitli novykh yevropeiskykh rekomendatsii [A modern strategy for the treatment of arterial hypertension and the prevention of its complications in the light of the new European recommendations of 2018]. *Rational pharmacotherapy*, 1–2 (50–51), 11–18 [in Ukrainian].
4. Nandhini, S. (2014). Essential hypertension-a review article. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6 (9). 305–7.
5. Eguchi, K., Hoshida, S., Kario, K. (2015). Effects of Celiprolol and Bisoprolol on Blood Pressure, Vascular Stiffness, and Baroreflex Sensitivity. *American Journal of Hypertension*, 7 (28), 858–867.
6. Pinto, I.C, Martins, D. (2017). Prevalence and risk factors of arterial hypertension: A literature review. *Journal of Cardiovascular Medicine and Therapeutics*, 1 (2), 1–7.
7. British Pharmacopoeia (2009). The British Pharmacopoeia Secretariat. London, Vol. 1. P. 10952. Retrieved from: <http://www.vek-com.ru/78022.html>.
8. Horyn, M., Kucher, T., Kryskiw, L., Poliak, O., Zarivna, N., Peleshok, K., Logoyda, L. (2022). Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol tartrate in tablets by using bromocresol green. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 5 (39), 55–63.
9. Horyn, M., Kryskiw, L., Kucher, T., Poliak, O., Zarivna, N., Zahrychuk, H., Korobko, D., Peleshok, K., Logoyda, L. (2022). Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol in tablets by using bromophenol blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 6 (40), 36–42.
10. Yarchuk, B., Kyliushyk, I., Zhuravel, S., Poliak, O., Zarivna, N. (2024). Perspektyvy rozrobky metodyk killisnoho vyznachennia bisoprololu z sulfoftaleinovymy barvnykamy v hotovykh likarskykh zasobakh [Prospects for the development of methods for the quantitative determination of bisoprolol with sulfophthalein dyes in ready-made medicinal products. Scientific and technical progress and optimization of technological processes for the creation of medicinal products: materials of the Scientific and Practical Conference with international participation, dedicated to the memory of the head of the department of pharmaceutical management and economics of pharmaceutical technology, Dr. Pharm. Sciences, prof. T. A. Hroshovoho (October 17–18, 2024)]. Ternopil : TNMU, P. 109–110 [in Ukrainian].
11. Derzhavna farmakopeia Ukrainy (2015). Derzhavne pidpriemstvo "Ukrainskyi naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv" [Farmakopeia Ukrainy: v 3 tState Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.] State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines" [in Ukrainian].

Адреса для листування: [zarivna@tdmu.edu.ua](mailto:zarivna@tdmu.edu.ua)

N. O. Zarivna

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## OPTIMIZATION OF SAMPLE PREPARATION CONDITIONS FOR DEVELOPMENT OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF BISOPROLOL FUMARATE BY REACTION WITH BROMOCRESOL PURPLE IN BISOPROLOL TABLETS

### Summary

**Introduction.** Hypertension is a disease that is mostly accompanied by disability and high mortality. Having analyzed its treatment protocols, doctors prefer drugs (drugs) from the group of beta-blockers. An alternative in prescriptions is often the drug – "Bisoprol". Although, today, various methods for its determination are known, there are a number of problems in their development; usually the tests are quite complex, take a lot of time, and require the use of expensive equipment and appropriate reagents. Also, there is a significant discrepancy with the main validation characteristics. All this suggests the relevance of developing a new method for the quantitative determination of bisoprolol, which will be fast, simple and economically feasible. Moreover, it will comply with the principles of environmental friendliness and safety.

Sample preparation is a crucial stage in pharmaceutical analysis, necessary both to improve the metrological characteristics of the test, to increase accuracy, correctness, expand the range of tested concentration values, and to reduce the error of test results. Therefore, the aim of the work is to optimize the conditions of sample preparation for the development of a spectrophotometric method for the quantitative determination of bisoprolol fumarate by reaction with bromocresol purple (BCP) in "Bisoprol" tablets.

**The aim of the research** – to optimize sample preparation conditions for the development of a spectrophotometric method for the quantitative determination of bisoprolol fumarate by reaction with bromocresol purple (BCP) in tablets.

**Research Methods.** Spectrophotometry was performed using a "Shimadzu UV1800" spectrophotometer (Japan) using the UVPProbe 2.62 software package, quartz cuvettes (1 cm), 10 mg "Bisoprol" tablets,

pharmacopoeial standard sample (PSS) of bisoprolol fumarate ("SigmaAldrich"), acetonitrile R (Sphera Seven p.d.a.), bromocresol purple ("Sigma – Aldrich").

**Results and discussion.** Considering the solubility of bisoprolol fumarate, the formation of its ionic associate with the BCP dye, the availability and non-toxicity of solvents, various solvents were analyzed, among which acetonitrile was selected, which has excellent properties for the absorption of the studied drug from BCP and serves as an alternative for further studies. After that, extracts from the PSZ and 10 mg Bisoprol tablets were obtained by reaction with BCP, which were later spectrophotometered and the corresponding absorption spectra were obtained.

They show intensely pronounced absorption bands in the visible region of the spectrum at a wavelength of 402 nm. Also, the optimal concentrations of the prepared solutions were selected and their stability was studied.

**Conclusions.** As a result of the conducted research, the conditions of sample preparation were optimized to develop a correct method for the quantitative determination of bisoprolol fumarate from BCP in "Bisoprol" tablets (solvent – acetonitrile R, wavelength 402 nm, optimal concentration of solutions  $7.0 \times 10^{-4}$  M, stability of prepared solutions for 45 minutes, which meets the requirements of the National Pharmacopoeia.

KEYWORDS: **sample preparation; bisoprolol fumarate; bromocresol purple; tablets; spectrophotometry.**

Стаття надійшла до редакції 14.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



**М. М. Горин**  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

## РОЗРОБКА ВЕРХ-МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ПІДХОДУ «ЯКІСТЬ ШЛЯХОМ РОЗРОБКИ» (QUALITY BY DESIGN)

**Вступ.** Лікарські засоби з групи блокаторів кальцієвих каналів (БКК) належать до базисних препаратів, що використовуються в терапії гіпертонічної хвороби (ГХ). Для забезпечення контролю якості лікарських засобів на будь-яких етапах життєвого циклу потрібні надійні, швидкі, чутливі та безпечні методики кількісного визначення їх активних фармацевтичних інгредієнтів. Ніфедипін за хімічною структурою належить до похідних 1,4-дигідропіридину. В існуючих методиках визначення ніфедипіну відсутнє планування експерименту, що, зі свого боку, призводить до надмірного використання розчинників та збільшення часу розробки методики через проведення серії негативних експериментів.

Метою роботи була розробка доступної, простої та безпечної ВЕРХ-методики визначення ніфедипіну в лікарських засобах із застосуванням підходів Quality by Design (QbD).

**Методи дослідження.** У дослідженні використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з діодноматричним детектуванням (ДМД) і програмним забезпеченням LabSolutions. Різного типу колонки використовували як стаціонарні фази для вивчення універсальності й доступності розробленої методики: Luna C8, Luna C18, Zorbax C8 Stable Bond (SB), InertClone ODS та Zorbax SB Phenyl. ФСЗ ніфедипіну (чистота  $\geq 98\%$ ) виробництва Sigma-Aldrich Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA), таблетки «Ніфедипін» 20 мг ПрАТ «ЛекХім».

**Результати й обговорення.** Для планування експерименту щодо розробки ВЕРХ методики визначення ніфедипіну в ЛЗ використано сучасний підхід QbD. Базові умови елюювання ґрунтувалися на ізократичному елююванні ніфедипіну рухомою фазою у складі: ацетонітрил – метанол – 0,7 % триетилламін з рН 3,05 у співвідношеннях 30–35–35. Хроматографічні умови: температура – 30 °С, швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв, детектування за довжини хвилі 237 нм, загальний час визначення – до 4 хв. Запропонована методика апробована на різних колонках: Luna C8 (150 × 4,6 мм, 3 мкм), Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), InertClone ODS (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм), Zorbax SB C8 (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм). За отриманими результатами можна зробити висновок, що запропонований підхід визначення ніфедипіну є універсальним і розширює горизонт використання розробленої методики для лабораторій з обмеженою кількістю хроматографічних колонок. Валідацію ВЕРХ-методики проводили відповідно до вимог настанови ІСН за такими параметрами: лінійність, правильність, прецизійність та робастність. Методики МВ та МКВ становили 2,33 мкг/мл та 7,08 мкг/мл відповідно. Діапазон застосування перебував у межах від 10 до 50 мкг/мл. Згідно з проведеними розрахунками інструментами MOGAPI, CaFRI, AGSA та CASI загальний бал екологічності розробленої методики становив 79, 69,44, 77 та 78 відповідно. Отримані значення підтверджують те, що запропонована методика ВЕРХ розроблена відповідно до основних постулатів «зеленої» хімії з використанням сучасних хроматографічних підходів.

**Висновки.** Розроблено доступну, швидку та безпечну ВЕРХ-методику визначення ніфедипіну в таблетках із використанням принципів QbD. ВЕРХ-методика кількісного визначення ніфедипіну може використовуватись у лабораторіях з обмеженим бюджетом, оскільки задовольняє параметри придатності хроматографічної системи на різного типу колонках.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ніфедипін; лікарські засоби; кількісне визначення; ВЕРХ; Quality by Design.

ВСТУП. Лікарські засоби з групи блокаторів кальцієвих каналів (БКК) належать до базисних препаратів, що використовуються в моно- та комбінованій терапії гіпертонічної хвороби (ГХ). За хімічною класифікацією БКК поділяються на дигідропіридинові та недигідропіридинові. До дигідропіридинових похідних належать: амлодипін, ніфедипін, лерканідипін, німодипін та інші. Механізм дії

описаних препаратів проявляється впливом на судини, тому актуальним є призначення з іншими антигіпертензивними засобами (що впливають на серцевий м'яз) в комбінованій терапії ГХ. Для забезпечення контролю якості лікарських засобів на будь-яких етапах життєвого циклу потрібні надійні, швидкі, чутливі й безпечні методики кількісного визначення їх активних фармацевтичних інгредієнтів. Ніфедипін за хімічною структурою належить до похідних 1,4-дигідропіридину,

pKa та Log P дорівнюють 5,41 та 3,41 відповідно [1–2]. У ДФУ немає монографії про субстанцію та лікарські форми ніфедипіну, тоді як в Американській фармакопеї наявні монографії щодо субстанції та капсул ніфедипіну. В описаних ВЕРХ-методиках використовували рухоми фазу в складі: ацетонітрил – метанол – вода у співвідношенні 25 : 25 : 50 зі швидкістю потоку 1 мл/хв та довжиною хвилі детектування 265 та 235 нм. Нерухома фаза – хроматографічна колонка L1 (4,6 мм × 25 см, 5 мкг) [3–4].

Фармакопейні методики визначення ніфедипіну мають дещо застарілі способи розробки методик, зважаючи на новітні підходи до компонентів рухомих фаз, умов хроматографування, дизайну дослідження та використання нових хроматографічних колонок. Нами було проведено критичний огляд існуючих джерел щодо аналітичного забезпечення лікарських форм ніфедипіну. У науковій літературі представлена низка хроматографічних методик визначення ніфедипіну в ЛЗ та біологічних рідинах [5–14]. У наведених методиках відсутнє планування експерименту, що, зі свого боку, призводить до надмірного використання розчинників та збільшення часу розробки методики через проведення серії негативних експериментів.

**Метою роботи** була розробка експресної, простої та «зеленої» ВЕРХ-методики визначення ніфедипіну в лікарських засобах із використанням підходів Quality by Design (QbD).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідженні використовували рідинний хроматограф Shimadzu LC-2050 C з діодноматричним детектуванням (ДМД) та програмним забезпеченням LabSolutions. Різного типу колонки використовували як стаціонарні фази для вивчення універсальності та доступності розробленої методики: Luna C8 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), Luna C18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм), InertClone ODS (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм), Zorbax SB C8 (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм) та Zorbax SB Phenyl (150 × 4,6 мм, 3,5 мкм). Для зважування, дегазації рухомих фаз та корегування pH використовували ваги аналітичні RAD WAG AS 200/C, ультразвукову баню (Elmasonic Easy 40 H, Germany) та pH-метр (Mettler-Toledo, model LE438, Switzerland) відповідно. Для планування експерименту використовували безплатну пробну версію застосунку MiniTab.

ФСЗ ніфедипіну придбано в Sigma-Aldrich Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA), таблетки «Ніфедипін» 20 мг – у ПрАТ «ЛекХім».

Розчинники: метанол (MeOH), ацетонітрил (ACN) та вода високоочищена виробництва Honeywell, Riedel-de Haen (Німеччина). Також у роботі використовували хроматографічної якості: фосфорну кислоту 88 % (для корегування pH), триетиламін (TEA), калію дигідроген фосфат та трифтороцтову кислоту (TFA). Для фільтрування робочих розчинів використовували фільтри RC Membrane (розміром 0,45 мкм, Phenex, Німеччина).

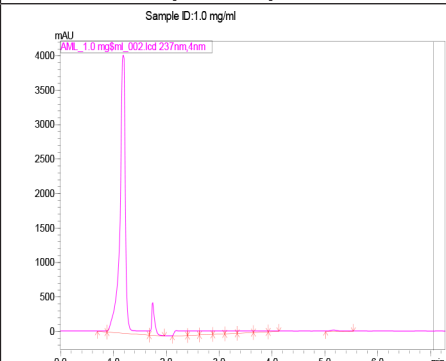
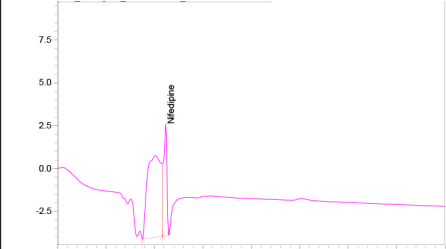
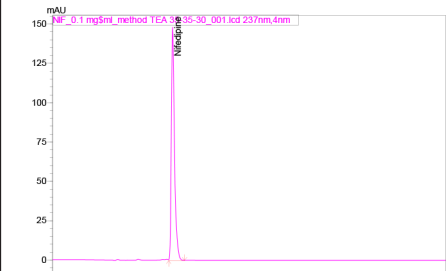
**Приготування випробовуваного розчину таблеток ніфедипіну:** масу наважки попередньо подрібнених таблеток ніфедипіну, що вміщує 25 мг ніфедипіну, розчиняють метанолом у мірній колбі на 25,00 мл та фільтрують. Відбирають 2,50 мл одержаного фільтрату в колбу на 25,00 мл і доводять об'єм до мітки метанолом.

**Приготування розчину порівняння ніфедипіну:** 25 мг ФСЗ ніфедипіну поміщають у мірну колбу на 25,00 мл, розчиняють у метанолі та перемішують. Аліквоту 2,50 мл одержаного розчину переносять до мірної колби на 25,00 мл і доводять метанолом до мітки.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Термін, що закладений для розробки ВЕРХ-методики кількісного визначення АФІ, залежить від позитивних і негативних результатів експериментальних досліджень. За великої частки негативних результатів зростає і відповідна кількість затрачених розчинників і реактивів. Крім того, це призводить до зменшення терміну «життя» колонки й експлуатації приладу. Сучасним підходом до планування та розробки методики є використання принципів «Якість шляхом розробки» (Quality by Design) [15]. Принципи QbD використовуються для планування та розробки аналітичних методик з урахуванням різних параметрів (факторів) методу, що впливають на хроматографічний відгук.

Для створення матриці експерименту потрібно провести попередні експериментальні дослідження вибору оптимальних хроматографічних умов. Базисною колонкою в експерименті вибрано Luna C8 розміром 150 × 4,6 мм та діаметром пор 3 мкм. На першому етапі вивчали різні підходи до компонентів рухомих фаз. У таблиці 1 показано способи з використанням у складі рухомих фаз трифтороцтової кислоти, буфера калію дигідрогенфосфату та ТЕА в різних співвідношеннях з органічними компонентами. Згідно з одержаними результатами ми зупинилися на підході з використанням у складі рухомої фази ТЕА.

Таблиця 1 – Різні підходи до компонентів рухомих фаз визначення ніфедипіну на хроматографічній колонці Luna C8 (150 × 4,6 мм, 3 мкм)

Підхід	Хроматограма	Висновок
Трифтороцтова кислота 0,1 %		Малий час утримування ніфедипіну (близький до «мертвого» об'єму) та незадовільне розділення
25 mM калію дигідроген фосфат		Великі шуми
TEA 0,5 %		Вузький, несиметричний пік

Як видно з таблиці 1, застосовуючи підхід з 0,5 % TEA у складі рухомої фази одержано розділення ніфедипіну, але з негативним коефіцієнтом симетрії. Тому для подальшого дослідження ми збільшили концентрацію

TEA до 0,7 %, що забезпечило відмінне утримування із задовільним значенням коефіцієнта симетрії ( $k'$ ).

Наступний етап попередніх експериментальних досліджень передбачав

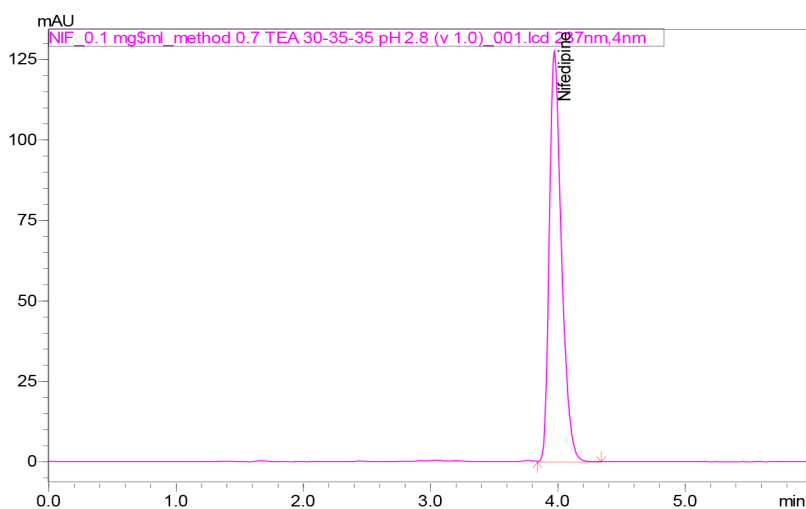


Рис. 1. Хроматограма ніфедипіну (0,1 мг/мл) з рухомою фазою ACN-MeOH – 0,7 % TEA з рН 2,8 (30–35–35) на колонці Luna C8

Таблиця 2 – Вивчення оптимальних хроматографічних умов

Результат	Параметри			0,8 мл/хв	1,0 мл/хв	1,2 мл/хв	рН 2,71	рН 2,91	рН 3,06	Критерії прийнятності
	30 °С	28 °С	32 °С							
Коефіцієнт асиметрії (Tf)	1,41	1,35	1,45	1,41	1,41	1,25	1,45	1,25	1,4	0,8–1,5
Коефіцієнт симетрії (K') («мертвий» об'єм 1,278)	2,11	2,16	2,08	2,86	2,11	1,55	1,56	1,54	1,54	1–10
Час утримування (Rt)	3,98	4,04	3,93	4,93	3,98	3,26	3,27	3,25	3,25	–
Число теоретичних тарілок (NTP)	8394	8410	8586	9646	8394	7580	7625	7541	7602	> 2000

підбір оптимальних співвідношень 0,7 % TEA й органічних компонентів у складі рухомої фази, а саме MeOH та ACN. Враховуючи параметри придатності хроматографічної системи впродовж всього експерименту, вибрали оптимальну рухому фазу в складі ACN-MeOH – 0,7 % TEA з рН 2,8 у співвідношеннях 30–35–35 (рис. 1.).

Для оптимізації хроматографічних умов проводили вивчення швидкості потоку, температури та рН, що показано в таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, робочими параметрами вибрано: температуру колонки –  $30 \pm 2$  °С, швидкість потоку – 1 мл/хв, рухома фаза у складі ACN-MeOH – 0,7 % TEA з рН 2,81 у співвідношенні 30–35–35.

Враховуючи те, що нашою метою була розробка доступної методики, ми провели апробацію розробленої методики на різних за ціною політикою хроматографічних колонках: Luna C18, Zorbax C8, InertClone ODS та Zorbax Phenyl.

З одержаних даних таблиці 3 випливає, що розроблена ВЕРХ-методика є універсальною і дає змогу забезпечити ефективне розділення ніфедипіну на різних алкільних колонках як стаціонарної фази. Використання Zorbax SB Phenyl (фенільної колонки) також допустиме, проте для забезпечення задовільних параметрів придатності хроматографічної системи потрібно скорегувати хроматографічні умови. Запропонована методика кількісного визначення ніфедипіну є доступною, адже із застосуванням різного типу хроматографічних колонок залишається швидкою та задовольняє параметри придатності хроматографічної системи. Отримані результати розширюють горизонт використання розробленої методики для лабораторій з обмеженою кількістю хроматографічних колонок, тому що в дослідженні показані й різні за ціною категорією колонки (Phenomenex – дешевші, Agilent – дорожчі).

**Оптимізація методики.** Для оптимізаційного експерименту використовували аналіз Vox Venken, що передбачав три фактори та

в загальному 26 експериментів (таблиця 4). Пріоритетними факторами вибрано співвідношення об'ємів MeOH, 0,7 % TEA в рухомій фазі та рН. Для аналізу й оптимізації основних параметрів проаналізовано такі відгуки: число теоретичних тарілок (NTP), площа піка (A), коефіцієнт асиметрії (Tf) та час утримування (Rt).

Для здійснення статистичного аналізу застосовано програмне забезпечення Minitab. Для вивчення значущості моделей, термінів та їх взаємодій – дисперсійний аналіз (ANOVA). Отримані значення регресійного аналізу подано в рівняннях регресії:

$$\begin{aligned}
 Rt &= 9,50 + 0,0045 \text{ MeOH} - 0,394 \text{ рН} - \\
 &- 0,5143 \text{ TEA} - 0,001049 \text{ MeOH} \cdot \text{MeOH} + \\
 &+ 0,008491 \text{ TEA} \cdot \text{TEA} + \\
 &+ 0,002580 \text{ MeOH} \cdot \text{TEA} + 0,01150 \text{ рН} \cdot \text{TEA} \\
 Res &= -11,63 + 0,531 \text{ TEA} \\
 TF &= -164,9 + 28,83 \text{ рН} + 7,43 \text{ TEA} - \\
 &- 0,0739 \text{ TEA} \cdot \text{TEA} - 0,854 \text{ рН} \cdot \text{TEA} \\
 NTP &= -14402 + 679 \text{ TEA} \\
 A &= -2798651 + 50253 \text{ MeOH} + 128448 \text{ TEA} - \\
 &- 1195 \text{ TEA} \cdot \text{TEA} - 1485 \text{ MeOH} \cdot \text{TEA}
 \end{aligned}$$

**Вплив факторів методу на відгук кількості теоретичних тарілок (NTP).** Як впливають фактори методики (MeOH, TEA та рН) на відгук NTP, показано на рис. 2. На хроматографічний відгук NTP найбільший вплив має TEA, а саме із зростанням TEA зростає NTP.

**Вплив факторів методу на відгук коефіцієнт асиметрії (Tf).** Як впливають фактори методики (MeOH, TEA та рН) на відгук Tf, показано на рис. 3. На хроматографічний відгук Tf значно впливає рН, а саме із зростанням значення рН збільшується Tf.

**Вплив факторів методу на відгук – площу піка (A).**

Як впливають фактори методики (MeOH, TEA та рН) на відгук A, показано на рис. 4. На хроматографічний відгук значно впливає MeOH, а саме зі збільшенням MeOH зростає A.

**Вплив факторів методу на відгук час утримування (Rt).** Як впливають фактори

Таблиця 3 – Апробація різних хроматографічних колонок

Хроматографічна колонка	Хроматограма	Примітки
Luna C18 Phenomenex		Симетричний пік із задовільними параметрами хроматографічної системи (час утримування до 3,5 хв)
Zorbax SB C8 Agilent Technologies		Несиметричний пік із задовільними параметрами хроматографічної системи (час утримування до 4,0 хв)
InertClone ODS Phenomenex		Симетричний пік із задовільними параметрами хроматографічної системи (час утримування до 5,0 хв)
Zorbax SB Phenyl Agilent Technologies		Несиметричний і вузький пік із незадовільними параметрами хроматографічної системи (час утримування до 4,0 хв)

Примітки: \* – хроматографічна колонка Luna C8 була базовою та описаною вище;  
 \*\* – SB – Stable Bond (захисена та стійка колонка).

методики (MeOH, TEA та pH) на відгук Rt, показано на рис. 5. На хроматографічний відгук Rt, як і на NTP, впливає TEA, а саме із зростанням TEA зростає Rt.

**Оптимізація методики.** Для оптимізації методики визначено такі критерії: NTP, A, Rt – максимальне значення, Tf – значення від 1,0 до 1,5. Результати оптимізації дослідження представлено на рис. 6. Найкраще елювання ніфедипіну спостерігалось з pH 3,05, а оптимальне відсоткове співвідношення

в рухомій фазі MeOH та TEA становило 35 і 30 % відповідно.

**Валідація хроматографічної методики визначення ніфедипіну.** Для забезпечення контролю якості ЛЗ потрібно використовувати валідовані методики кількісного визначення АФІ. Валідацію розробленої ВЕРХ-методики проводили за такими параметрами: лінійність, робастність, правильність та прецизійність відповідно до вимог настанови ІСН [16].

Таблиця 4 – Матриця експерименту

StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	MeOH	pH	TEA	NTP	A	Tf	Rt
1	1	2	1	30	2,7	32,5	8838	177783	1,786	3,412
2	2	2	1	35	2,7	32,5	7690	178026	1,557	3,51
3	3	2	1	30	3,1	32,5	8634	178084	1,781	3,386
4	4	2	1	35	3,1	32,5	7558	182009	1,568	3,486
5	5	2	1	30	2,9	30	0	142101	0	3,086
6	6	2	1	35	2,9	30	7101	176601	1,598	3,155
7	7	2	1	30	2,9	35	9792	176387	1,716	3,821
8	8	2	1	35	2,9	35	8055	177334	1,458	3,955
9	9	2	1	32,5	2,7	30	7748	161647	0	3,123
10	10	2	1	32,5	3,1	30	7689	181167	1,726	3,116
11	11	2	1	32,5	2,7	35	9085	176830	1,567	3,894
12	12	2	1	32,5	3,1	35	9064	177306	1,563	3,912
13	13	0	1	32,5	2,9	32,5	8562	176717	1,65	3,459
14	14	2	1	30	2,7	32,5	8767	178376	1,777	3,41
15	15	2	1	35	2,7	32,5	7685	177978	1,546	3,508
16	16	2	1	30	3,1	32,5	8733	178466	1,793	3,39
17	17	2	1	35	3,1	32,5	7553	178428	1,554	3,491
18	18	2	1	30	2,9	30	0	136312	0	3,083
19	19	2	1	35	2,9	30	7113	177047	1,598	3,155
20	20	2	1	30	2,9	35	9806	177335	1,712	3,817
21	21	2	1	35	2,9	35	8012	177386	1,461	3,953
22	22	2	1	32,5	2,7	30	7660	164291	0	3,119
23	23	2	1	32,5	3,1	30	7703	177323	1,694	3,114
24	24	2	1	32,5	2,7	35	8975	176765	1,585	3,888
25	25	2	1	32,5	3,1	35	9405	176957	1,594	3,904
26	26	0	1	32,5	2,9	32,5	8498	176836	1,654	3,457

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

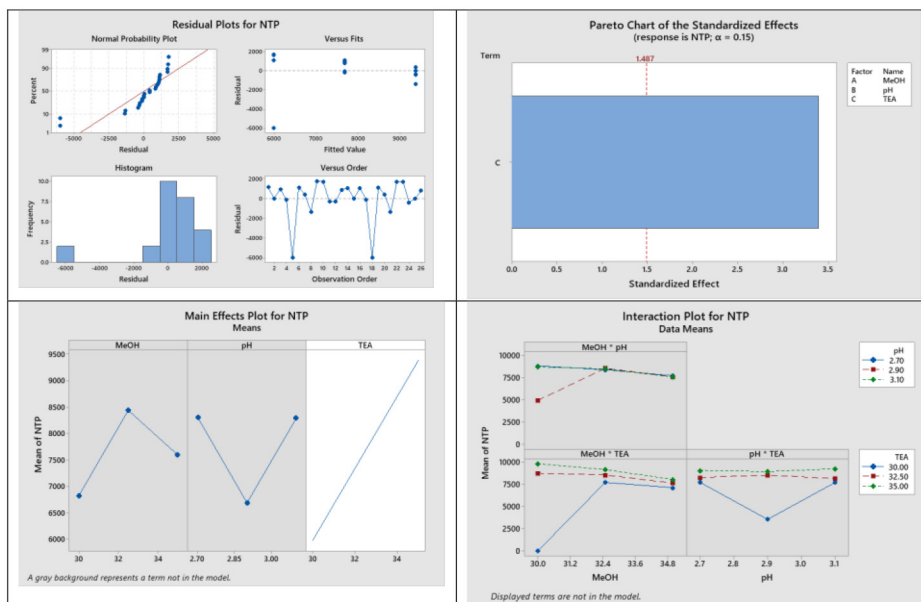


Рис. 2. Результати вивчення хроматографічного відгуку NTP

**Лінійність, діапазон застосування.** Лінійність ВЕРХ-методики проводили за допомогою регресійного аналізу. Результати вивчення основних параметрів лінійної залежності продемонстровано в таблиці 5.

Калібрувальний графік та рівняння регресії наведено на рисунку 7.

МВ та МКВ методики становлять 2,33 та 7,08 мкг/мл відповідно. Діапазон застосування перебував у межах від 10 до 50 мкг/

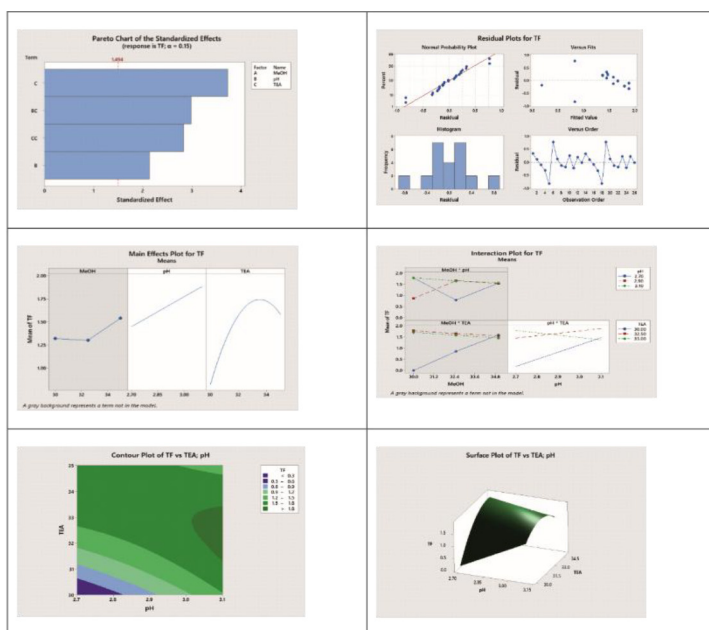


Рис. 3. Результати вивчення хроматографічного відгуку Tf

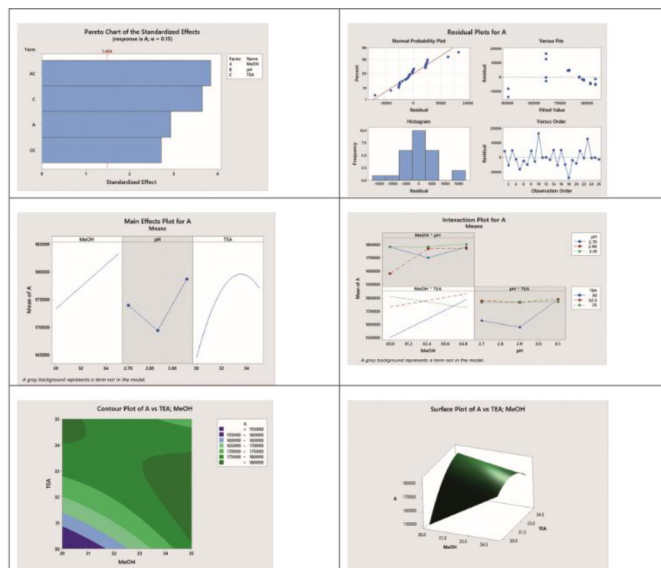


Рис. 4. Результати вивчення хроматографічного відгуку A

мл. Отримані значення лінійної залежності відповідають критеріям прийнятності.

**Правильність та прецизійність.** Для вивчення валідаційного параметра «правильність», згідно з табл. 6, готували модельні зразки з точними концентраціями АФІ в межах від 80 до 120 %, оцінюючи коректність критеріїв прийнятності. Для вивчення прецизійності виконували по 6 експериментів у 3 серіях дослідів (табл. 7). Одержані результати правильності та прецизійності відповідають критеріям прийнятності.

**Апробація розробленої ВЕРХ-методики для кількісного визначення ніфедипіну в таблетках.** Розроблену хроматографічну методику було протестовано на таблетках «Ніфедипін» 20 мг ПрАТ «ЛекХім». Отримані результати підтверджують можливість використання розробленої хроматографічної методики для аналізу ЛЗ на основі ніфедипіну (табл. 8).

**Робасність.** Для аналізу валідаційного параметра «робасність» вивчали зміни Tf та Rt залежно від змін температури та швидкості потоку.

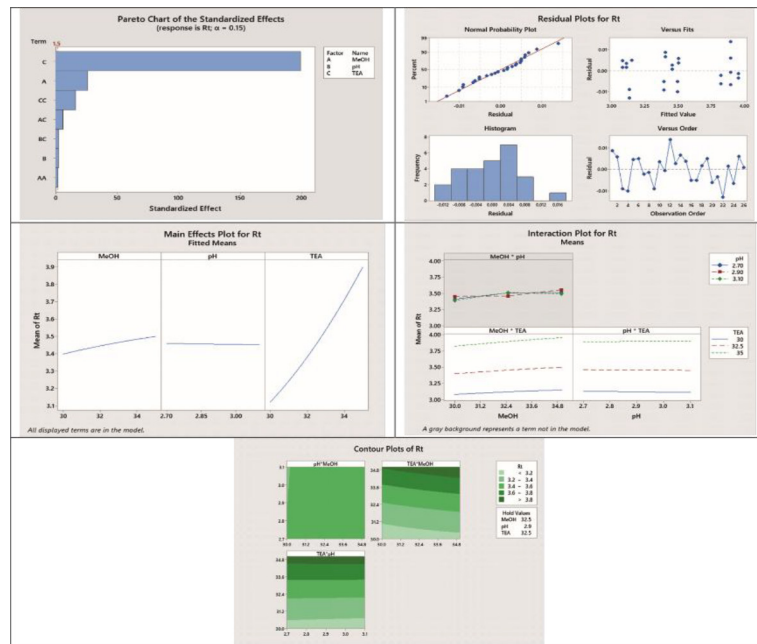


Рис. 5. Результати вивчення хроматографічного відгуку Rt

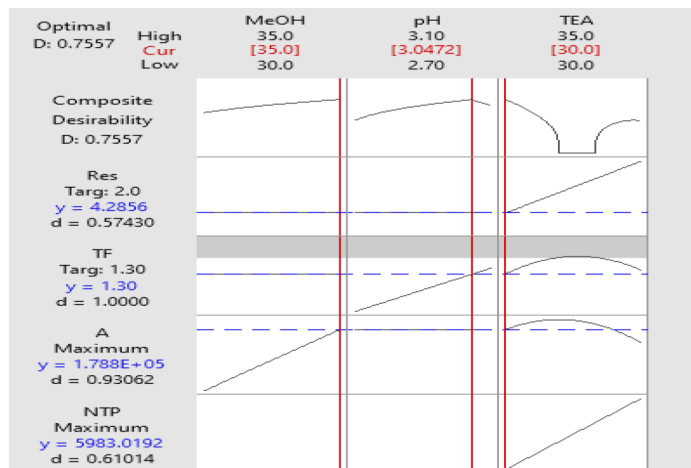


Рис. 6. Результати оптимізації хроматографічної методики кількісного визначення ніфедипіну з рухомою фазою у складі ACN-МеОН – 0,7 % TEA з рН 3,05 (30–35–35)

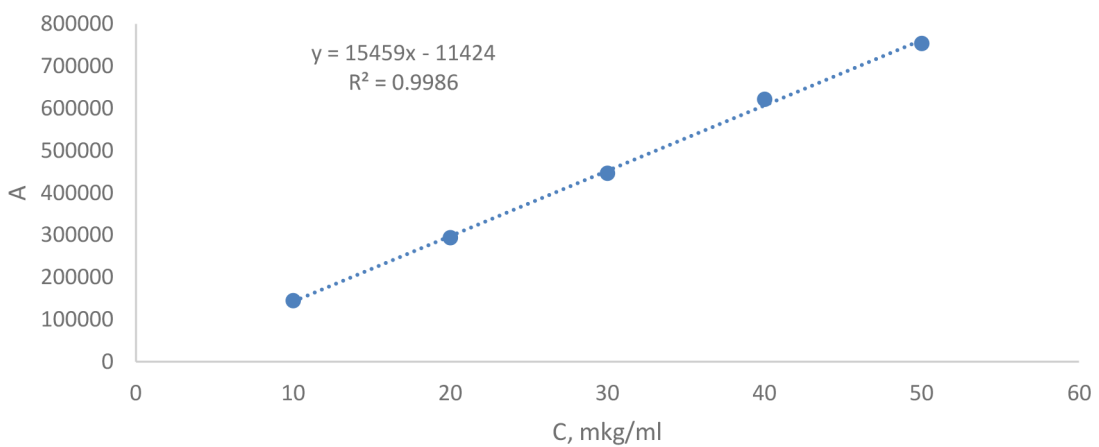


Рис. 7. Залежність концентрації ніфедипіну від площі піка

Таблиця 5 – Основні параметри лінійної залежності

Параметр	Значення	Критерій	Висновок про методу
$b \pm (S_b)$	15 459 $\pm$ (330,11)	–	Коректна
$a \pm (S_a)$	-11 423,8 $\pm$ (10 948,79)	$ a  \leq \Delta a$	Коректна
$\Delta a$	30 398,72	–	Коректна
$\Delta b$	916,56	–	Коректна
$R^2$	0,9986	$> 0,9980$	Коректна
МВ	2,337	–	Коректна
МКВ	7,083	–	Коректна
Діапазон застосування, мкг/мл	10,00–50,00	–	Коректна

Таблиця 6 – Результати вивчення правильності

Модельні зразки	Вміст ніфедипіну, %		Результат $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100$ %
	Введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) \cdot 100$ %	Знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) \cdot 100$ %	
$M_1$	79,91	80,04	100,17
$M_2$	80,11	80,05	99,93
$M_3$	80,29	79,99	99,63
$M_4$	100,16	100,15	99,99
$M_5$	99,99	100,01	100,02
$M_6$	100,10	100,22	100,12
$M_7$	120,05	119,97	99,93
$M_8$	120,01	120,05	100,03
$M_9$	120,12	119,97	99,86
Середнє значення, $Z$ , %			99,96
Стандартне відхилення, $S_z$ , %			0,16
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95\%, 8) \cdot S_z = 2,3060 S_z$ , %			0,37
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2,4$ %			Виконується ( $0,37 < 2,4$ )
Систематична похибка $\delta =  Z - 100 $ , %			0,04
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta$ %			Виконується ( $0,04 < 0,51$ )
Відповідає вимогам			Загальний висновок про методу

Таблиця 7 – Результати вивчення прецизійності

№ зразка	Значення $Z_p$ , %		
	1-й експеримент	2-й експеримент	3-й експеримент
1	100,07	99,89	100,12
2	99,95	100,05	99,97
3	99,98	101,01	100,10
4	100,09	100,10	100,04
5	100,15	99,89	100,16
6	99,99	99,95	99,92
Середнє $Z$ (%)	100,04	99,98	100,05
$RSD_{x^2}$ , %	0,09	0,08	0,10
Відносне стандартне відхилення, $RSD_z$ (%)	0,09		
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z$	$0,09 \leq 2,4$		
Критичне значення збіжності результатів $\Delta_{As}$ , %	2,4		

Результати, наведені в табл. 9, свідчать, що невеликі зміни температури та швидкості потоку не мають суттєвого впливу на робастність методики.

Застосування принципів «зеленої» хімії для розробки ВЕРХ-методики визначення ніфедипіну в лікарських засобах

Підтвердженням актуальності екологічно безпечних методик є суттєве збільшення інструментів і метрик для вивчення «зеленості» за останніх декілька років. Це пов'язано із забезпеченням мінімізації негативних впливів перед, під час та після аналізу ЛЗ на навколишнє середовище та працівників лабораторії. Для

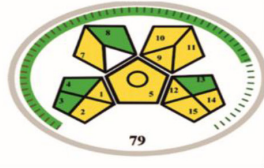
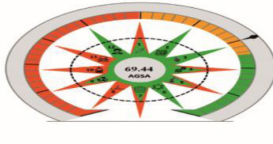


Таблиця 8 – Кількісне визначення ніфедипіну в таблетках

Лікарський препарат	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
Таблетки «Ніфедипін» 20 мг ПрАТ «ЛекХім»	0,0202	$\bar{m} = 0,020$ г $S = 1,87 \cdot 10^{-4}$ $t = 2,57$ $\Delta x = 1,96 \cdot 10^{-4}$ $RDS = 0,93$ $\varepsilon = 0,98 \%$
	0,0201	
	0,0198	
	0,0199	
	0,0200	
	0,0203	

Таблиця 9 – Результати вивчення робасності

Хроматографічні параметри		Tf	Rt
Швидкість потоку, мл/хв	0,8	1,45	4,93
	1,0	1,41	3,98
	1,2	1,25	3,26
Температура, °C	28	1,35	4,04
	30	1,41	3,98
	32	1,45	3,93

Таблиця 10 – Результати вивчення екологічності ВЕРХ-методики визначення ніфедипіну

Інструмент	Результат
Modified GAPI (MOGAPI)	
AGSA	
CaFRI	
CACI	

вивчення екологічності розробленої ВЕРХ-методики застосовували інструменти Modified GAPI (MOGAPI), CaFRI, AGSA, CACI [17–20].

Згідно з проведеними розрахунками інструментами MOGAPI, CaFRI, AGSA та CACI загальний бал екологічності

розробленої методики становив 79, 69,44, 77 та 78 відповідно. Отримані значення підтверджують, що запропонована ВЕРХ-методика розроблена відповідно до основних постулатів «зеленої» хімії з використанням сучасних хроматографічних підходів.

ВИСНОВКИ. Нами розроблено доступну, швидко й безпечно ВЕРХ-методику визначення ніфедипіну в таблетках із використанням принципів QbD. У роботі показано імплементацію розробленої методики на різних типах хроматографічних колонок та за різною ціною категорією. ВЕРХ-методика кількісного визначення ніфедипіну може використовуватись у лабораторіях з обмеженим бюджетом, оскільки задовольняє параметри

придатності хроматографічної системи на різного типу колонках. Для забезпечення надійності результатів проводили валідацію розробленої ВЕРХ-методики відповідно до принципів ІСН. Методика була лінійною в діапазоні від 10 до 50 мкг/мл, МВ та МКВ становило 2,34 та 7,08 мкг/мл відповідно. Отримані значення вивчення екологічності методами MOGAPI, AGSA, CASI та CaFri вказують на відмінний «зелений» результат.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gonchar A., Sholoiko N. Consumption analysis of two-component fixed combinations of medicines for arterial hypertension treatment in Ukraine as one of the stages for evaluation of their reimbursement prospects. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022. Vol. 4, No. 38. P. 19–27. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.263733>
2. PubChem – National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2024).
3. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). 11th Edition. 2022. URL: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (accessed on 22 March 2023).
4. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc. URL: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2023).
5. Garg S., Bhosale A. P., Saritha K., Pendlikatla S., Haritha G., Yadav P., Yanmandru V. K. Determination of Nifedipine by Validated RP-HPLC Method in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. *Journal of Advanced Zoology*. 2023. Vol. 44.
6. Girase Sanjana P., Chetna R. Mahajan, Pratibha S. Mali. Development and validation of stability indicating HPLC method for estimation of nifedipine in extended-release tablet dosage form. *World journal of pharmaceutical research*. 2024. Vol. 13, No. 23. P. 1306–1316.
7. Hashem H., Ehab I. A., Magda E. A novel stability indicating HPLC-method for simultaneous determination of atenolol and nifedipine in presence of atenolol pharmacopoeial impurities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2025. Vol. 5, No. 8. P. 017–025.
8. Zhang M. J., Jiang S. X., Huang X. M., Wei W. Z., Duan G. P., Zhang H. Q. Rp-hplc determination of nifedipine tablets. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2011. Vol. 31, No. 2. P. 368–370.
9. Logoyda L., Korobko D., Ivanusa I., Kovalenko S. Development of the methodology of the chromatographic determination of nifedipine in medicines. 2017.
10. Bhardwaj S., Gupta M. K., Bhalla V. Method development and validation of stability indicating UPLC assay method for Nifedipine. *International Journal of Drug Regulatory Affairs*. 2018. Vol. 3, No. 4. P. 24–42.
11. Galan-Rodriguez C., González-Álvarez J., Valls-Remolí M. Method development and validation study for quantitative determination of nifedipine and related substances by ultra-high-performance liquid chromatography. *Biomedical Chromatography*. 2015. Vol. 29, No. 2. P. 233–239.
12. Arafat M., Ahmed Z., Mikov M. Determination of nifedipine in rat plasma using HPLC-UV detector: A simple method for pharmacokinetics and oral bioavailability studies. *Int. J. Pharma. Pharm. Sci*. 2016. Vol. 8. P. 98–102.
13. Logoyda L. A HPLC-MS/MS method development and validation for the simultaneous determination of nifedipine and enalapril in human plasma. *Int J Appl Pharm*. 2018. Vol. 10. P. 35–42.
14. Logoyda L. HPLC-MS/MS method development for the quantitative determination of nifedipine for Caco-2 permeability assay. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67. P. 83–88.
15. ICH I. Q9 (R1). Quality Risk Management. In International conference on harmonization of technical requirements for registration of Pharmaceuticals for Human use considerations. 2023.
16. ICH Q2 (R2). Validation of Analytical Procedures – Scientific guideline. Geneva. 2023. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline> (accessed on 24 June 2024).
17. Mansour F. R., Bedair A., Belal F., Magdy G., Locatelli M. Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2025. Vol. 46. P. 102051.
18. Mansour F. R., Nowak P. M. Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI) as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC chemistry*. 2025. Vol. 19, No. 1. P. 121.
19. Mansour F. R., Plotka-Wasyłka J., Locatelli, M. Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*. 2024. Vol. 5, No. 3. P. 451–457.
20. Mansour F. R., Bedair A., Locatelli M. Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*. 2025. Vol. 14. P. 100164.

## REFERENCES

- Gonchar, A., & Sholoiko, N. (2022). Consumption analysis of two-component fixed combinations of medicines for arterial hypertension treatment in Ukraine as one of the stages for evaluation of their reimbursement prospects. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 4 (38), 19–27. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.263733>
- PubChem – National Library of Medicine. Retrieved from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/> (accessed on 31 May 2024).
- European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). 11th Edition (2022). Retrieved from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (accessed on 22 March 2023).
- The United States Pharmacopeia (2021). The National Formulary. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, Inc. Retrieved from: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2023).
- Garg, S., Bhosale, A. P., Saritha, K., Pendlikatla, S., Haritha, G., Yadav, P., Yanmandru, V. K. (2023). Determination of Nifedipine by Validated RP-HPLC Method in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. *Journal of Advanced Zoology*, 44.
- Girase, Sanjana P., Chetna R. Mahajan, & Pratibha S. Mali (2024). Development and validation of stability indicating HPLC method for estimation of nifedipine in extended-release tablet dosage form. *World journal of pharmaceutical research*, 13 (23), 1306–1316.
- Hashem, H., Ehab, I.A., & Magda, E. (2015). A novel stability indicating HPLC-method for simultaneous determination of atenolol and nifedipine in presence of atenolol pharmacopoeial impurities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(8), 017–025.
- Zhang, M. J., Jiang, S. X., Huang, X. M., Wei, W. Z., Duan, G. P., & Zhang, H. Q. (2011). Rp-Hplc determination of nifedipine tablets. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 31(2), 368–370.
- Logoyda, L., Korobko, D., Ivanusa, I., & Kovalenko, S. (2017). Development of the methodology of the chromatographic determination of nifedipine in medicines.
- Bhardwaj, S., Gupta, M. K., & Bhalla, V. (2018). Method development and validation of stability indicating UPLC assay method for Nifedipine. *International Journal of Drug Regulatory Affairs*, 3(4), 24–42.
- Galan-Rodriguez, C., González-Álvarez, J., & Valls-Remolí, M. (2015). Method development and validation study for quantitative determination of nifedipine and related substances by ultra-high-performance liquid chromatography. *Biomedical Chromatography*, 29(2), 233–239.
- Arafat, M., Ahmed, Z., & Mikov, M. (2016). Determination of nifedipine in rat plasma using HPLC-UV detector: A simple method for pharmacokinetics and oral bioavailability studies. *Int. J. Pharma. Pharm. Sci*, 8, 98–102.
- Logoyda, L. (2018). A HPLC-MS/MS method development and validation for the simultaneous determination of nifedipine and enalapril in human plasma. *Int J Appl Pharm*, 10, 35–42.
- Logoyda, L. (2020). HPLC-MS/MS method development for the quantitative determination of nifedipine for Caco-2 permeability assay. *Pharmacia*, 67, 83–88.
- ICH, I. (2023). Q9 (R1) Quality Risk Management. In *International conference on harmonization of technical requirements for registration of Pharmaceuticals for Human use considerations*.
- ICH Q2 (R2) Validation of Analytical Procedures–Scientific guideline. Geneva(2023). Retrieved from: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline> (accessed on 24 June 2024).
- Mansour, F. R., Bedair, A., Belal, F., Magdy, G., Locatelli, M. (2025). Analytical Green Star Area (AGSA) as a new tool to assess greenness of analytical methods. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 46, 102051.
- Mansour, F. R., Nowak, P. M. (2025). Introducing the carbon footprint reduction index (CaFRI) as a software-supported tool for greener laboratories in chemical analysis. *BMC Chemistry*, 19 (1), 121.
- Mansour F. R., Plotka-Wasyłka J., Locatelli, M. (2024). Modified GAPI (MoGAPI) tool and software for the assessment of method greenness: case studies and applications. *Analytica*, 5 (3), 451–457.
- Mansour, F. R., Bedair, A., Locatelli, M. (2025). Click analytical chemistry index as a novel concept and framework, supported with open source software to assess analytical methods. *Advances in Sample Preparation*, 14, 100164.

Адреса для листування: [tverdun\\_mamy@tdmu.edu.ua](mailto:tverdun_mamy@tdmu.edu.ua)

M. M. Horyn

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

## DEVELOPMENT OF THE HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF NIFEDIPINE IN DRUGS USING THE APPROACH “QUALITY BY DESIGN”

### Summary

**Introduction.** Calcium channel blockers (CCBs) are among the basic drugs used in the treatment of hypertension (HT). To ensure the quality control of drugs at any stage of the life cycle, reliable, fast, sensitive and safe methods for the quantitative determination of their active pharmaceutical ingredients are required. Nifedipine is a 1,4-dihydropyridine derivative by chemical structure. Existing methods for the determination of nifedipine lack experimental planning, which in turn leads to excessive use of solvents and an increase in the time required to develop the method due to a series of negative experiments.

**The aim of the work** was to develop an accessible, simple and safe HPLC method for the determination of nifedipine in drugs using Quality by Design (QbD) approaches.

**Research Methods.** In this study used a Shimadzu LC-2050 C liquid chromatograph with a diode array detection (DMD) and LabSolutions software. Different types of columns were used as stationary phases when studying the versatility and accessibility of the developed method: Luna C8, Luna C18, Zorbax C8 Stable Bond (SB), InertClone ODS and Zorbax SB Phenyl. Nifedipine CRS (purity  $\geq 98\%$ ) manufactured by Sigma-Aldrich Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA), Nifedipine tablets 20 mg manufactured by LekKhim PrJSC.

**Results and Discussion.** To plan the experiment on the development of HPLC method for the determination of nifedipine in drugs was used a modern QbD approach. The basic elution conditions were based on isocratic elution of nifedipine with a mobile phase consisting of: acetonitrile-methanol – 0.7 % triethylamine with pH 3.05 in the ratios 30–35–35. Chromatographic conditions: temperature – 30 °C, mobile phase flow rate – 1 ml/min, detection at wavelength – 237 nm, total detection time up to 4 min. The proposed method was tested on different columns: Luna C8 (150 × 4.6 mm, 3  $\mu\text{m}$ ), Luna C18 (100 × 4.6 mm, 3  $\mu\text{m}$ ), InertClone ODS (150 × 4.6 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ), Zorbax SB C8 (150 × 4.6 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ). According to the results, it can be concluded that the proposed approach for the determination of nifedipine is universal and expands the horizon of the use of the developed method for laboratories with a limited number of chromatographic columns. Validation of the HPLC method was carried out in accordance with the requirements of the ICH for the following parameters: linearity, accuracy, precision and robustness. The LOD and LOQ of the method were 2.33  $\mu\text{g/ml}$  and 7.08  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. The range of application was from 10 to 50  $\mu\text{g/ml}$ . According to the calculations performed using the MOGAPI, CaFRI, AGSA and CACI tools, the overall environmental score of the developed method was 79, 69.44, 77 and 78, respectively. The obtained values confirm that the proposed HPLC method was developed in accordance with the basic postulates of “green” chemistry using modern chromatographic approaches.

**Conclusions.** An accessible, rapid and safe HPLC method for the determination of nifedipine in tablets using QbD principles has been developed. The HPLC method for the quantitative determination of nifedipine can be used in laboratories with a limited budget, as it satisfies the suitability parameters of the chromatographic system on various types of columns.

KEY WORDS: amlodipine besylate; quantification; medicines; HPLC; Quality by Design.

Стаття надійшла до редакції 14.09.2025

Стаття прийнята 30.09.2025

Статтю опубліковано 24.10.2025



## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ

1. Для друку потрібно надсилати статті українською або англійською мовою, в яких публікуються результати оригінальних досліджень, а також інформація про основні наукові проблеми та результати наукових робіт у сфері медицини, біології, фармації, ветеринарної медицини.

2. Під текстом статті обов'язково необхідно вказати прізвище, ім'я, по батькові, місце роботи кожного автора, а також **електронну адресу** автора, з яким можна вести листування і переговори.

3. Електронний варіант статті потрібно зареєструвати в системі OJS на електронній сторінці журналу (сайт <http://ojs.tdmu.edu.ua>) і надіслати на електронну пошту (**journal@tdmu.edu.ua** або **yaroshenko@tdmu.edu.ua**, або **yaroshenkotya@ukr.net**).

4. Обсяг оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, список літератури, резюме, повинен перевищувати 5 сторінок, обсяг проблемної статті, огляду літератури, лекції – бути більшим 12 сторінок, обсяг короткого повідомлення, рецензії – в межах 5 сторінок.

5. Таблиці, рисунки та інший ілюстративний матеріал потрібно надсилати кожний окремим файлом. Формат файлів для тексту і таблиць – документ MS Word (doc, docx або rtf), для рисунків та іншого ілюстративного матеріалу – jpg, tif, bmp чи pdf. Для формул бажано використовувати редактор формул Microsoft Equation. У підписах до мікрофотографій слід зазначати збільшення і метод фарбування матеріалу. Фотографії повинні бути контрастними, рисунки – чіткими. Таблиці повинні мати короткі заголовки і власну нумерацію. Відтворення одного й того ж матеріалу у вигляді таблиць і рисунків не допускається.

6. Статті треба писати за такою схемою: УДК, ініціали і прізвища авторів українською мовою, повна назва установи українською мовою (великими літерами), назва роботи українською мовою (великими літерами), резюме українською мовою (250–300 слів), яке повинно містити такі структурні елементи, як **вступ, мета дослідження, методи дослідження, результати й обговорення, висновки**, ключові слова українською мовою (до 8), вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки, список літератури, references, ініціали і прізвища авторів англійською мовою, повна назва установи англійською мовою (великими літерами), назва статті англійською мовою (великими літерами), структуроване резюме англійською мовою (1800 знаків), ключові слова англійською мовою (до 8). Складовими резюме оглядових статей повинні бути **вступ, мета дослідження, висновки**, ключові слова українською мовою (до 8).

7. Текст статті (опис оригінальних та експериментальних досліджень) повинен містити такі розділи, як:

- постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними завданнями;

- аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор; виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, яким присвячена означена стаття;

- формулювання цілей статті (постановка завдання);

- виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;

- висновки з даного дослідження і перспективи подальших досліджень у цьому напрямку.

Кожен із цих розділів потрібно виділити.

8. Усі позначення мір (одиниці різних величин, цифрові дані клінічних і лабораторних досліджень) необхідно подавати відповідно до Міжнародної системи одиниць (СІ) згідно з вимогами групи стандартів ДСТУ 3651-97 "Одиниці фізичних величин". Назви фірм, реактивів і препаратів потрібно наводити в оригінальній транскрипції.

9. В описі експериментальних досліджень слід вказувати вид, стать, кількість тварин, методи анестезії при маніпуляціях, пов'язаних із завданням тваринам болю, метод їх умертвіння. Обов'язковою умовою є гуманне ставлення до тварин при проведенні експериментів.

10. У тексті статті при посиланні на публікацію слід зазначати її номер у порядку згадування у квадратних дужках.

11. Необхідно надсилати два варіанти списку літератури – традиційний і додатковий для закордонних баз даних (references). Перший варіант оформити звичайним способом, згідно з ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 – як у дисертаційних роботах. Другий варіант сформувати за стандартом APA – American Psychological Association (<http://www.citethisforme.com>). Він повністю повторює перший, але транслітерований латиницею. У списку латиницею необхідно вказати всіх авторів літературного джерела (ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 цього не передбачає). Назву джерела (журналу, книги, конференції) завжди виділяти курсивом.

**Вимоги до оформлення додаткового списку літератури (references):**

**1. Структура бібліографічного посилання на кириличне джерело:**

- прізвище(а) й ініціали автора(ів) (транслітерація);

- рік публікації у круглих дужках ( );

- назва англійською мовою;
- назва джерела (журналу, конференції) англійською мовою;
- вихідні дані (місце видання, сторінки) англійською мовою.

## **2. Алгоритм оформлення блоку references:**

- додати в кінці [in Ukrainian];
- у книзі вказати англійською мовою повне місце видання (скажімо, Київ), назву видавництва транслітерувати.

**ВАЖЛИВО:** в елементах опису можна використовувати лише прямі лапки (") та заборонено замінювати латинські літери кириличними.

### **Зразки оформлення цитувань у стилі APA**

#### **Стаття в журналі**

Прізвище(а) й ініціали автора(ів) транслітеровані. (Рік публікації). *Назва статті англійською мовою. Назва журналу англійською мовою, том, номер, випуск, сторінка(и).*

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). Title of article. *Library science. Document science. Informology*, 4 (1), 121-135 [in Ukrainian].

Один автор – Author, A.A.

Два автори – Author, A.A., & Author, B.B.

Від трьох до семи авторів – Author, A.A., Author, B.B., Author, C.C., Author, D.D., Author, E.E., Author, F.F., & Author, G.G.

Більше семи авторів – Author, A.A., Author, B.B., Author, C.C., Author, D.D., Author, E.E., Author, F.F., ... Author, Z.Z.

#### **Книга**

Прізвище(а) й ініціали автора(ів) транслітеровані. (Рік публікації). Назва книги англійською мовою. Місто англійською мовою: Назва видавництва транслітерована.

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). *Title of book*. Kyiv: Naukova dumka [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). Subtitle. In *Title of book* (Vol. 10, pp. 33–44). Kyiv: Naukova dumka [in Ukrainian].

#### **Дисертація, автореферат дисертації**

Назву дисертації перекласти. Обов'язково вказати PhD dissertation, Extended abstract of PhD dissertation, Master's thesis. Навести або правильний офіційний переклад назви установи, або транслітерацію назви.

**ВАЖЛИВО:** краще посилатися на повний текст дисертації, а не на автореферат.

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). *Title of dissertation. PhD dissertation (Social Communication)*. Kharkiv State Academy of Culture, Kharkiv [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). *Title of dissertation. Extended abstract of PhD dissertation (Social Communication)*. Kharkiv State Academy of Culture, Kharkiv [in Ukrainian].

#### **Тези доповідей, матеріали конференцій**

Тези доповідей – *Abstracts of Papers*.

Матеріали (труди) конференцій – *Proceedings of the Conference Name*.

Матеріали з Міжнародної конференції/симпозіуму/з'їзду... – *Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference/Symposium/Congress...*

**Приклад:**

Author, A.A. (2015). Title of the article. *Abstracts of Papers. Conference Name*. Kyiv, June 1–3. 2015. (pp. 29-42). Kyiv: VNLU [in Ukrainian].

Author, A.A. (2015). Title of the article. In *Title of book* (якщо є): *Proceedings of the Conference*. Kyiv, June 1–3. 2015. (pp. 29–42). Kyiv: VNLU [in Ukrainian].

12. Редакція виправляє орфографічні, пунктуаційні та стилістичні помилки, усуває зайві ілюстрації, при потребі скорочує текст.

13. Статей, оформлених без дотримання наведених правил, не реєструють. Перш за все друкують статті передплатників журналу, а також матеріали, що замовлені редакцією.

14. Автор несе повну відповідальність за достовірність даних, наведених у статті, й списку літератури.

15. Публікація статей платна. Оплата здійснюється після рецензування статті (необхідно надсилати рецензії двох незалежних експертів, які є докторами наук із цієї тематики).

Наукове видання

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

**3(105)<sup>ТОМ 27</sup>**  
**2025**

Коректура • Ірина Миколаївна Чудеснова

Комп'ютерна верстка • Тетяна Олексіївна Клименко

Формат 60x84/8. Гарнітура Arimo. Підписано до друку: 06.10.2025.  
Папір офсет. Цифровий друк. Ум. друк. арк. 10,46. Замов. № 1125/865. Наклад 300 прим.

Видавництво і друкарня – Видавничий дім «Гельветика»  
65101, Україна, м. Одеса, вул. Інглєзі, 6/1  
Телефон +38 (095) 934 48 28, +38 (097) 723 06 08  
E-mail: mailbox@helvetica.ua  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи  
ДК № 7623 від 22.06.2022 р.