

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ
PHARMACEUTICAL SCIENCES**

УДК 615.454:615.212:615.07

DOI: 10.18413/2313-8955-2017-3-3-74-81

**Автина Т.В.,
Покровский М.В.,
Куликов А.Л.,
Автина Н.В.**

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИННОВАЦИОННОГО
НЕОПИОИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА В МУКОАДГЕЗИВНОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»), ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия. E-mail: avtina_t@bsu.edu.ru

Аннотация. *Введение.* Блокатор TRPA₁ каналов (ZC02-0012) – инновационное лекарственное средство, относящееся к классу неопиоидных анальгетиков. По результатам его фармакокинетических исследований принято решение о целесообразности разработки его пролонгированной лекарственной формы, в качестве которой выбраны биополимерные пленки, являющиеся одной из инновационных лекарственных форм пролонгированного действия, предназначенные для местного применения и обладающие рядом положительных свойств. С целью стандартизации лекарственной формы по показателю «Количественное содержание» разработана методика с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа с диодно-матричным детектором. *Материалы и методы.* Объектом исследования являются биополимерные пленки, содержащие неопиоидный анальгетик, блокатор TRPA₁ каналов (ZC02-0012). Количественное содержание неопиоидного анальгетика подтверждали методом ВЭЖХ при соблюдении следующих условий: прибор – хроматограф жидкостной с рабочим диапазоном давлений 0-60 мПа; детектор – спектрофотометрический с системой диодной матрицы, работающей в диапазоне 195-400 нм; защитная колонка – Zorbax SB C8 12,5×4,6 мм с размером частиц 5,0 мкм; колонка – Zorbax SB C8 150×4,6 мм с размером частиц 3,5 мкм; подвижная фаза А (ПФ А) – 10,35 г/л KClO₄ + 2,6 мл/л HClO₄; подвижная фаза Б (ПФ Б) – ацетонитрил; температура термостата образцов – 5°C; температура термостата колонки – 40 °C; объем инъекции – 20 мкл; время удерживания ZC02-0012 – около 7,0 мин; длина волны – 291 нм (190-400 нм для идентификации); режим разделения – линейное градиентное элюирование. Методика количественного определения неопиоидного анальгетика в биополимерной пленке исследована по валидационным характеристикам: специфичность, правильность, линейность и воспроизводимость. *Результаты и их обсуждение.* Процедурой валидации доказана правильность, линейность и воспроизводимость методики количественного определения неопиоидного анальгетика в биорастворимой полимерной пленке в диапазоне концентраций 80-120% от номинального содержания фармакологически активной субстанции. Получены валидационные характеристики методики: правильность ($e_{r \max}$ – 0,31%, $e_{r \text{ ср}}$ – 0,07%, Δe_r = 0,04%); линейность (наблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации анальгетика, r = 0,99987); воспроизводимость ($S_r^{\text{ср}}$ – 1,45%, $\epsilon_{\text{ср}}$ – 1,03%). Количественное содержание неопиоидного анальгетика в биополимерной пленке находится в пределах от 90% до 110%. *Заключение.*

Разработанная и валидированная методика количественного определения неопиоидного анальгетика была успешно применена для стандартизации биополимерной пленки ZC02-0012 по показателю «Количественное содержание».

Ключевые слова: биополимерная пленка; количественное определение; неопиоидный анальгетик; блокатор TRPA₁ каналов; высокоэффективная жидкостная хроматография.

T.V. Avtina,
M.V. Pokrovskiy,
A.L. Kulikov,
N.V. Avtina

QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE INNOVATIVE NEOPIOID ANALGETIC IN A MUKOADGESIVE DOSAGE FORM

Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia.

E-mail: avtina_t@bsu.edu.ru

Abstract. Introduction. The TRPA1 channel blocker (ZC02-0012) is an innovative drug belonging to the class of non-opioid analgesics. According to the results of his pharmacokinetic studies, a decision was made on the expediency of developing its prolonged dosage form, which was chosen as biopolymer films, which are one of the innovative long-acting dosage forms intended for topical application and possessing a number of positive properties. In order to standardize the dosage form in terms of the "Quantitative Content" indicator, there was developed a method using a highly efficient liquid chromatograph with a diode-array detector. *Materials and methods.* The subject of the study includes biopolymer films containing a non-opioid analgesic, a blocker of TRPA1 channels (ZC02-0012). The quantitative content of the non-opioid analgesic was confirmed by HPLC under the following conditions: instrument – a liquid chromatograph with a working pressure range of 0-60 mPa; detector is spectrophotometric with a diode array system operating in the range of 195-400 nm; protective column – Zorbax SB C8 12.5 × 4.6 mm with a particle size of 5.0 μm; column – Zorbax SB C8 150 × 4.6 mm with a particle size of 3.5 μm; mobile phase A – 10.35 g/l KClO₄ + 2.6 ml/l HClO₄; mobile phase B – acetonitrile; the temperature of the sample thermostat is 5°C; the temperature of the column thermostat is 40°C; injection volume – 20 μl; retention time of ZC02-0012 is about 7.0 minutes; wavelength is 291 nm (190-400 nm for identification); separation mode – linear gradient elution. The method of quantitative determination of a non-opioid analgesic in a biopolymer film was studied by validation characteristics: specificity, accuracy, linearity and precision. *Results and discussion.* Validation procedure proved the accuracy, linearity and precision of the method of quantitative determination of a non-opioid analgesic in a biodegradable polymeric film in the concentration range of 80-120% of the nominal content of a pharmacologically active substance. The validation characteristics of the method were obtained: accuracy ($e_{r \max} - 0.31\%$, $e_{r \text{ average}} - 0.07\%$, $\Delta e_r = 0.04\%$); linearity (linear dependence of optical density on analgesic concentration is observed, $r = 0.99987$); precision ($S_r^{\text{average}} - 1.45\%$, $\varepsilon_{\text{average}} - 1.03\%$). The quantitative content of the non-opioid analgesic in the biopolymer film ranges from 90% to 110%. *Conclusion.* The developed and validated method for the quantitative determination of the non-opioid analgesic was successfully applied to standardize the biopolymer film ZC02-0012 in terms of the "Quantitative content" indicator.

Keywords: biopolymer film; quantitative determination; non-opioid analgesic; blocker TRPA1 channels; high-performance liquid chromatography.

Введение. Развитие биофармацевтических исследований на этапе разработки

лекарственных форм показывает, что важное значение для эффективного лечения

заболевания имеет правильно выбранная лекарственная форма, которая обеспечивает не только удобство применения, но, главным образом, целенаправленное использование включенной в нее фармакологически активной субстанции. Последнее время проводятся многочисленные исследования с целью поиска новых лекарственных средств для лечения различных заболеваний, действие которых направлено в том числе и на новые фармакологические мишени [9, 12, 14, 17]. Объектом наших исследований является инновационный неопиоидный анальгетик, блокатор TRPA₁ каналов (ZC02-0012), обладающий рядом положительных характеристик относительно своих предшественников [5, 6, 7, 8, 16, 18, 19]. По результатам проведенных фармакокинетических исследований ZC02-0012 в плазме крови кроликов сделан вывод о целесообразности разработки его пролонгированной мукоадгезивной лекарственной формы, в качестве которой выбраны биополимерные пленки. Одной из инновационных лекарственных форм, обладающих пролонгированным действием и предназначенной для местного лечения являются биополимерные пленки, обладающие рядом положительных характеристик: конструктивная простота и надежность, технологичность, удобство применения, точность дозирования и постоянство концентрации лекарственного вещества в течение определенного промежутка времени, прогнозируемый профиль высвобождения лекарственного вещества. Благодаря своим положительным характеристикам, биорастворимые полимерные пленки внедряют в такие области клинической практики, как: стоматология, офтальмология, оториноларингология, гинекология и др. [1, 2, 3, 4].

Разработку лабораторной технологии лекарственного препарата проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIII изд., гармонизированного трехстороннего руководства ICH Q8 «Фармацевтическая разработка».

Одним из показателей качества биополимерной пленки является количественное содержание фармакологи-

чески активного ингредиента в лекарственной форме. В последнее время наиболее применяемым методом для количественного определения аналита в лекарственном препарате является высокоэффективная жидкостная хроматография [10, 11, 13, 15, 20]. Поэтому, для подтверждения качества разработанной лекарственной формы неопиоидного анальгетика была проведена оценка возможности использования метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором.

Цель работы – разработка методики количественного определения неопиоидного анальгетика, блокатора TRPA₁ каналов в биополимерной пленке с применением высокоэффективного жидкостного хроматографа с диодно-матричным детектором с целью стандартизации лекарственной формы по показателю «Количественное содержание».

Материалы и методы. Объектом исследования являются биополимерные пленки, содержащие неопиоидный анальгетик, блокатор TRPA₁ каналов (ZC02-0012). В качестве вспомогательных веществ использовали натрий-карбоксиметилцеллюлозу, поливиниловый спирт, лауромакрогол-400, твин-80, бензалкония хлорид, глицерин, воду очищенную.

Для количественного определения неопиоидного анальгетика разработана и валидирована методика с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором. В работе использовали реактивы: калия перхлорат (ф. Merk), хлорную кислоту (ф. Merk), ацетонитрил для градиентной хроматографии (ф. Merk), вода очищенная и деионизированная с помощью системы «Gene Pure» (Thermo Scientific, США). Определение неопиоидного анальгетика в биополимерной пленке проводили на жидкостном хроматографе UltiMate 3000 RS LC (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенным вакуумным дегазатором, градиентным насосом, автосемплером, термостатом колонок, диодно-матричным детектором.

Приготовление испытуемого раствора.
В коническую колбу вместимостью 25 мл помещали 0,05 г (точная навеска) пленки, приливали 10 мл воды очищенной, нагревали до $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$ и интенсивно перемешивали в течение 30 мин, после чего обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 10 мин, охлаждали до комнатной температуры, доводили объем раствора ацетонитрилом до метки и фильтровали через фторопластовый мембранный фильтр (PVDF) с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Готовили два испытуемых раствора. Раствор использовали свежеприготовленным.

Приготовление раствора стандартного образца (СО) ZC02-0012. Около 0,15 г (точная навеска) СО помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 50% водном растворе ацетонитрила, перемешивали до полного растворения вещества, доводили объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали через фторопластовый мембранный фильтр (PVDF) с размером пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата. Раствор годен в течение 48 ч при температуре 4°C .

В качестве *раствора «бланк»* использовали 50% раствор ацетонитрила.

Аналит детектировали на диодно-матричном детекторе. Количественное определение проводили при соблюдении следующих условий: прибор – хроматограф жидкостной с рабочим диапазоном давлений 0-60 мПа; детектор – спектрофотометрический с системой диодной матрицы, работающей в диапазоне 195-400 нм; защитная колонка – Zorbax SB C8 12,5×4,6 мм с размером частиц 5,0 мкм; колонка – Zorbax SB C8 150×4,6 мм с размером частиц 3,5 мкм; подвижная фаза А (ПФ А) – 10,35 г/л KClO_4 + 2,6 мл/л HClO_4 ; подвижная фаза Б (ПФ Б) – ацетонитрил; температура термостата образцов – 5°C ; температура термостата колонки – 40°C ; объем инъекции – 20 мкл; время удерживания ZC02-0012 – около 7,0 мин; длина волны – 291 нм 190-400 нм для идентификации; режим разделения – линейное градиентное элюирование (табл. 1).

Таблица 1

Режим градиентного элюирования для количественного определения неопиоидного анальгетика в биорастворимой полимерной пленке

Table 1

The mode of gradient elution for the quantitative determination of a non-opioid analgesic in a biosoluble polymer film

Время, мин	Поток, мл/мин	ПФ: 10,35 г/л KClO_4 + 2,6 мл/л HClO_4 , %	ПФ: Ацетонитрил, %
0	1,0	70	30
10,5	1,0	60	40
11,0	1,0	70	30
15,0	1,0	70	30

Хроматографическую систему считали пригодной при выполнении следующих условий:

– фактор асимметрии пика ZC02-0012 – не более 2,0;

– относительное стандартное отклонение площади пика ZC02-0012, рассчитанное для шести последовательных хроматограмм, – не более 2,0 %;

Содержание ZC02-0012 в биорастворимой полимерной пленке рассчитывали относительно раствора стандартного образца.

Методика количественного определения неопиоидного анальгетика в мукоадгезивной лекарственной форме прошла тесты по следующим валидационным характеристикам: специфичность, правильность, линейность и воспроизводимость.

Специфичность методики оценивали по разделению всех посторонних пиков, пиков плацебо с основным пиком и между собой. Для этого активную субстанцию подвергали искусственной деградации (температурная, кислотнo-щелочная, окислительная и УФ деградации).

Для оценки *правильности, линейности, диапазона методики количественного определения* готовили модельные растворы на пяти уровнях концентраций (80% (0,128 мг/мл), 90% (0,144 мг/мл), 100% (0,160 мг/мл), 110% (0,176 мг/мл) и 120% (0,192 мг/мл) от номинального содержания ZC02-0012 в испытуемом

растворе для количественного определения и все остальные компоненты биорастворимой полимерной пленки на уровне их постоянного содержания. В каждом уровне приготовлен один раствор и проанализирован в трёх повторностях.

Межлабораторную воспроизводимость методики количественного определения ZC02-0012 в биополимерной пленке оценивали на трех сериях образцов по разработанной методике количественного определения.

Результаты и их обсуждение.

Разработанная методика количественного определения показала хорошую правильность, линейность и воспроизводимость результатов.

Обобщенные результаты валидации методики количественного определения ZC02-0012 в биорастворимой полимерной пленке с критериями приемлемости представлены в итоговой таблице по валидации (табл. 2).

Таблица 2

Валидационные характеристики методики количественного определения ZC02-0012 в биорастворимой полимерной пленке

Table 2

The validation characteristics of the method for the quantitative determination of ZC02-0012 in a biodegradable polymer film

Валидационная характеристика	Критерий приемлемости	Результаты
Правильность	1. $e_{r \max}$, % – не более 5% 2. $e_{r \text{cp}}$, % – не более 3%	1. 0,31%; 2. 0,07%; 3. $\Delta e_r = 0,04\%$
Линейность	1. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации ZC02-0012 в образце 2. Коэффициент корреляции $r \geq 0,99$	1. Наблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации ZC02-0012. 2. $r = 0,99987$
Воспроизводимость	1. S_r^{cp} – не более 3% 2. ΔS_r^{cp} , % – не более 4,5%	1. 1,45% 2. 1,03%

Процедурой валидации доказана правильность, линейность и воспроизводимость методики количественного определения ZC02-0012 в биорастворимой полимерной пленке в диапазоне концентраций 80-120% от номинального содержания неопиоидного анальгетика. Получены следующие валидационные характеристики методики: правильность ($e_{r \max} = 0,31\%$, $e_{r \text{cp}} = 0,07\%$, $\Delta e_r = 0,04\%$); линейность (наблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации анальгетика, $r = 0,99987$); воспроизводимость ($S_r^{\text{cp}} = 1,45\%$, $\varepsilon_{\text{cp}} = 1,03\%$). По результатам теста «Специфичность» получены положительные результаты: все продукты синтеза и деградации разделены от основного пика, а также между собой, что подтверждает специфичность методики.

Применив указанную методику количественного определения неопиоидного анальгетика в биополимерной пленке методом ВЭЖХ провели стандартизации указанной лекарственной формы по показателю «Количественное содержание». Проводили по пять параллельных опытов по вышеописанной методике на трех сериях образцов пленок. Количественное содержание неопиоидного анальгетика в биополимерной пленке находится в пределах от 90% до 110%. При определении лекарственного вещества наблюдается незначительный разброс значений и, как следствие, незначительная относительная погрешность вычислений ($\pm 1,31\%$). Значения границ доверительного интервала среднего результата находятся в пределах от 97,50% до 100,08%.

Заключение.

Разработанная и валидированная методика количественного определения неопиоидного анальгетика, блокатора TRPA₁ каналов (ZC02-0012) с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектором пригодна для стандартизации биополимерной пленки неопиоидного анальгетика по показателю «Количественное содержание». Разработанная лекарственная форма

анальгетика соответствует разработанным требованиям по показателю «Количественное содержание».

Благодарность. Исследование выполнено при поддержке грантов Президента РФ № МК-6135.2016.4.

В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.

Список литературы

1. Использование полимерных аппликационных антибактериальных пленок для лечения больных с перфоративными одонтогенными верхнечелюстными синуситами / Лазарев А.И., Честникова С.Э., Ерофеева Л.Н., Панкрушева Т.А. // Российская оториноларингология. 2007. № 2. С. 3-6.
2. Панкрушева Т.А., Автина Н.В., Панкрушев А.А. Лекарственные формы, используемые в местной терапии воспалительных заболеваний пародонта // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т. 16. № 1. С. 139-141.
3. Полимерные лекарственные пленки для лечения заболеваний слизистых оболочек / Панкрушева Т.А., Ерофеева Л.Н., Маравина И.Н., Чекмарева М.С., Автина Т.В., Автина Н.В. // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. 2014. Т. 1. № 7. С. 211-212.
4. Разработка лекарственных препаратов для лечения воспалительных заболеваний пародонта / Панкрушева Т.А., Автина Н.В., Панкрушев А.А., Нестерова А.В., Медведева О.А. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2003. № 2. С. 214-219.
5. Cigarette smoke extract (CSE) induces transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) expression via activation of HIF1 α in A549 cells / Nie Y., Huang C., Zhong S., Wortley M.A., Luo Y., Luo W., Xie Y., Lai K., Zhong N. Nie Y. // Free Radic Biol Med. 2016. V. 99. Pp. 498-507.
6. General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation / Matta J.A., Cornett P.M., Miyares R.L., Abe K., Sahibzada N., Ahern G.P. // Proc Natl Acad Sci USA. 2008; V. 105. № 25. Pp. 8784-8789.
7. Ion channel TRPA1 is a promising therapeutic target for treatment of pain / Beskhnelnitsyna E.A., Korokin M.V., Avtina T.V., Martynova O.V., Varavin I.I., Tishin A.N. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2015. V. 1. № 1 (1). P. 20-22. doi: 10.18413/2500-235X-2015-1-4-21-24.
8. Jordt S.E., Bautista D.M., Chuang H.H. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 // Nature. 2004. V. 427. № 6971. P. 260-265.
9. Metabolic cardioprotection: new concepts in implementation of cardioprotective effects of meldonium / Danilenko L.M., Klochkova G.N., Kizilova I.V., Korokin M.V. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. V. 2. № 3. P. 95-100. doi: 10.18413/2500-235X -2016-2-3-95-100.
10. Novel HPLC Analysis of Hydrocortisone in Conventional and Controlled-Release Pharmaceutical Preparations / Adi-Dako O., Bekoe Oppong S., Ofori-Kwakye K., Appiah E., Peprah P. // J Pharm (Cairo). 2017. V. 2017: 9495732. doi: 10.1155/2017/9495732.
11. Novel stereoselective high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of guaifenesin and ketorolac enantiomers in human plasma / Maher H.M., Al-Taweel S.M., Alshehri M.M., Alzoman N.Z. // Chirality. 2014. V. 26. № 10. P. 629-639. doi: 10.1002/chir.22354.
12. Nuclear factor kappa B as a potential target for pharmacological correction endothelium-associated pathology / Ragulina V.A., Kostina D.A., Dovgan A.P., Burda Y.E., Nadezhdin S.V. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. Vol. 3. № 1. P. 114-124. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-114-124.
13. Optimization of the RP-HPLC method for multicomponent analgetic drug determination / Ivanovic D., Medenica M., Malenovic A., Jancic B., Misljenovic Dj. // Boll Chim Farm. 2003. V. 142. № 9. P. 386-389.
14. Pleyotropic antiaggregant effects of an innovative antiarrhythmic of class III SS-68, an indole derivative / Bogus S.K., Dukhanin A.S., Kucheryavenko A.F., Vinakov D.V., Suzdalev K.F., Galenko-Yaroshevsky P.A. // Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. V. 3, № 2. P. 3-13. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-2-3-13.
15. Simultaneous determination of newly developed antiviral agents in pharmaceutical formulations by HPLC-DAD / Al-Zoman N.Z., Maher H. M., Al-Subaie A. // Chem Cent J. 2017. V. 11. P. 1-8 doi: 10.1186/s13065-016-0232-6.
16. Skerratt S. Chapter Three – Recent Progress in the Discovery and Development of TRPA1

Modulators // Prog Med Chem. 2017. V. 56. P. 81-115.

17.Synthesis of resveratrol derivatives as new analgesic drugs through desensitization of the TRPA1 receptor / Nakao S., Nakao S., Mabuchi M., Wang S., Kogure Y., Shimizu T., Noguchi K., Tanaka A., Dai Y. // Bioorg Med Chem Lett. 2017. V. 27. № 14. Pp. 3167-3172.

18.Transient receptor potential ankyrin 1 receptor activation in vitro and in vivo by pro-tussive agents: GRC 17536 as a promising anti-tussive therapeutic / Mukhopadhyay I., Kulkarni A., Aranake S., Karnik P., Shetty M., Thorat S., Ghosh I. // PLoS One. 2014. V.9. № 5. P. e97005.

19.Trevisani M., Siemens J., Materazzi S. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1 // Proc Natl Acad Sci USA. 2007. V. 104. № 33. P. 13519-13524.

20.Validated spectrophotometric and chromatographic methods for simultaneous determination of ketorolac tromethamine and phenylephrine hydrochloride / Belal T.S., El-Kafrawy D.S., Mahrous M.S., Abdel-Khalek M.M., Abo-Gharam A.H. // Ann Pharm Fr. 2016. V. 74. № 4. P. 267-82. doi: 10.1016/j.pharma.2015.12.006.

References

1. Lazarev A.I., Chestnikova S.E., Erofeeva L.N., Pankrusheva T.A. Use of polymeric application antibacterial films for the treatment of patients with perforated odontogenic maxillary sinusitis. Russian otorhinolaryngology. 2007. 2. Pp. 3-6. *Russian*.

2. Pankrusheva T.A., Avtina N.V., Pankrushev A.A. The Medicamental Forms Used in Local Therapy of Inflammatory Diseases of Parodontium. Journal of New Medical Technologies. 2009. 16 (1). Pp. 139-141. *Russian*.

3. Pankrusheva T.A., Erofeeva L.N., Maravina I.N., Chekmareva M.S., Avtina T.V., Avtina N.V. Polymeric medicinal films for the treatment of diseases of the mucous membranes. Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye, tekhnicheskie i medicinskie nauki. 2014. 1 (7). Pp. 211-212. *Russian*.

4. Pankrusheva T.A., Avtina N.V., Pankrushev A.A., Nesterova A.V., Medvedeva O.A. Formulation of medicinal drugs for the treating inflammatory parodontium diseases. Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2003. 2. Pp. 214-219. *Russian*.

5. Nie Y., Huang C., Zhong S., Wortley M.A., Luo Y., Luo W., Xie Y., Lai K., Zhong N. Nie Y.

Cigarette smoke extract (CSE) induces transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) expression via activation of HIF1 α in A549 cells. Free Radic Biol Med. 2016. 99. Pp. 498-507.

6. Matta J.A., Cornett P.M., Miyares R.L., Abe K., Sahibzada N., Ahern G.P. General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation. Proc Natl Acad Sci USA. 2008. 105 (25). Pp. 8784–89.

7. Beskhnelnitsyna E.A., Korokin M.V., Avtina T.V., Martynova O.V., Varavin I.I., Tishin A.N. Ion channel TRPA1 is a promising therapeutic target for treatment of pain. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2015. 1 (1 (1)). Pp. 20-22. doi: 10.18413/2500-235X-2015-1-4-21-24.

8. Jordt S.E., Bautista D.M., Chuang H.H. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1. Nature. 2004. 427 (6971). Pp. 260–265.

9. Danilenko L.M., Klochkova G.N., Kizilova I.V., Korokin M.V. Metabolic cardioprotection: new concepts in implementation of cardioprotective effects of meldonium. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2016. 2 (3). Pp. 95-100. doi: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-95-100.

10.Adi-Dako O., Bekoe Oppong S., Ofori-Kwakye K., Appiah E., Peparah P. Novel HPLC Analysis of Hydrocortisone in Conventional and Controlled-Release Pharmaceutical Preparations. J Pharm (Cairo). 2017. 2017: 9495732. doi: 10.1155/2017/9495732.

11.Maher H.M., Al-Taweel S.M., Alshehri M.M., Alzoman N.Z. Novel stereoselective high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of guaifenesin and ketorolac enantiomers in human plasma. Chirality. 2014. 26 (10). Pp. 629-39. doi: 10.1002/chir.22354.

12.Ragulina V.A., Kostina D.A., Dovgan A.P., Burda Y.E., Nadezhdin S.V. Nuclear factor kappa B as a potential target for pharmacological correction endothelium-associated pathology. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. 3 (1). Pp. 114-124. doi: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-114-124.

13.Ivanovic D., Medenica M., Malenovic A., Jancic B., Misljenovic Dj. Optimization of the RP-HPLC method for multicomponent analgetic drug determination. Boll Chim Farm. 2003. 142 (9). Pp. 386-389.

14.Bogus S.K., Dukhanin A.S., Kucheryavenko A.F., Vinakov D.V., Suzdalev K.F., Galenko-Yaroshevsky P.A. Pleyotropic antiaggregant effects

of an innovative antiarrhythmic of class III SS-68, an indole derivative. Research result: pharmacology and clinical pharmacology. 2017. 3 (2). Pp. 3-13. doi: 10.18413/2313-8971-2017-3-2-3-13.

15. Al-Zoman N.Z., Maher H. M., Al-Subaie A. Simultaneous determination of newly developed antiviral agents in pharmaceutical formulations by HPLC-DAD. Chem Cent J. 2017. 11. Pp. 1-8. doi: 10.1186/s13065-016-0232-6.

16. Skerratt S. Chapter Three – Recent Progress in the Discovery and Development of TRPA1 Modulators. Prog Med Chem. 2017. 56. Pp. 81-115.

17. Mukhopadhyay I., Kulkarni A., Aranake S., Karnik P., Shetty M., Thorat S., Ghosh I. Transient receptor potential ankyrin 1 receptor activation in vitro and in vivo by pro-tussive agents: GRC 17536 as a promising anti-tussive therapeutic. PLoS One. 2014. 9 (5). P. e97005.

18. Trevisani M., Siemens J., Materazzi S. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1. Proc Natl Acad Sci USA. 2007. 104 (33). Pp. 13519–24.

19. Nakao S., Nakao S., Mabuchi M., Wang S., Kogure Y., Shimizu T., Noguchi K., Tanaka A., Dai Y. Synthesis of resveratrol derivatives as new analgesic drugs through desensitization of the TRPA1 receptor. Bioorg Med Chem Lett. 2017. 27 (14). Pp. 3167-3172.

20. Belal T.S., El-Kafrawy D.S., Mahrous M.S., Abdel-Khalek M.M., Abo-Gharam A.H. Validated

spectrophotometric and chromatographic methods for simultaneous determination of ketorolac tromethamine and phenylephrine hydrochloride. Ann Pharm Fr. 2016. 74 (4). Pp. 267-82. doi: 10.1016/j.pharma.2015.12.006.

Автина Татьяна Валерьевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии.

Покровский Михаил Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии.

Куликов Александр Леонидович, аспирант кафедры фармакологии.

Автина Наталья Валерьевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии.

Avtina Tatiana Valeryevna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacology.

Pokrovskiy Mikhail Vladimirovich, Holder of Habilitation Degree in Medicine, Professor, Department of Pharmacology.

Kulikov Alexander Leonidovich, Post-graduate Student, Department of Pharmacology.

Avtina Natalia Valeryevna, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmaceutical technology.