

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

УДК 615.075:615.035.4:615.015

<https://doi.org/10.24959/nphj.20.28>

Л. М. Малоштан, О. М. Шаталова, О. А. Рухмакова, Л. О. Шакіна

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Використання клітин лінії Caco-2 для прогнозування біодоступності ксенобіотиків

Вступ. На базі проблемної лабораторії морфологічних досліджень НФаУ проведено дослідження біопроникності гліцираму – біологічно активної речовини з кореня солодки. Гліцирам – це тритерпеновий глікозид, який має широкий спектр фармакологічної активності. Однак виразність активності залежить від багатьох фармакокінетичних характеристик препарату, зокрема від біодоступності. Біодоступність у фармакології відображає здатність лікарської речовини засвоюватися в організмі. Прийнято вважати, що проходження ліків через кишковий епітелій (моношар клітин) є головним бар'єром для препарату на його шляху проникнення в систему кровообігу. Визначення біодоступності субстанції гліцирам проведено *in vitro* на моделі клітин лінії Caco-2, які відтворюють більшість властивостей і характеристик диференційованих епітеліальних клітин кишечника. У фармацевтичному секторі України впроваджена в практику біофармацевтична система класифікації (БСК) діючих речовин. Відповідно до існуючої БСК діючі речовини за їх розчинністю у різних середовищах і за проникністю розділені на 4 класи.

Метою дослідження було визначити, до якого класу біофармацевтичної системи класифікації відноситься гліцирам.

Матеріали та методи. Процедура визначення проникності на культурі клітин Caco-2 складалася з наступних етапів: культивування клітин, інкубування клітин на мікропористому фільтрі (підготовка тест-системи), визначення тест-придатності системи (вимір трансепітеліального електричного опору, калібрування методу), визначення проникності стандартизованої субстанції гліцирам у порівнянні з внутрішнім стандартом пропранололу гідрохлоридом, кількісне визначення проникності дослідної субстанції методом ВРХ з УФ або МС-детектором.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного експерименту з використанням моношару Caco-2 отримано середнє значення проникності гліцираму ($7,755 \pm 0,517$) Е-08 см/с. Ці дані свідчать, що субстанція гліцирам має низьку проникність через епітеліальний шар кишечника (менше 50 %). Враховуючи результати попередніх досліджень, в яких була встановлена висока розчинність гліцираму, можна віднести гліцирам згідно з біофармацевтичною системою класифікації до 3 класу.

Висновки. Отримані результати досліджень обґрунтовують доцільність використання на основі гліцираму саме лікарських форм, які б минали бар'єр ентероцитів тонкого кишечника, зокрема пелетів, гелів або кремів.

Ключові слова: екстракт кореня солодки; гліцирам; біофармацевтична система класифікації; біодоступність

L. M. Maloshtan, O. M. Shatalova, O. A. Rukhmakova, L. O. Shakina
National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The use of Caco-2 line cells for predicting the xenobiotics bioavailability

The biopermeability of glycyram, a biologically active substance from *Glycyrrhiza glabra* root was studied in the Problem Laboratory of Morphofunctional Studies of the National University of Pharmacy. Glycyram is a triterpene glycoside with a wide range of the pharmacological activity. However, the intensity of the activity depends on many pharmacokinetic characteristics of the drug, in particular on its bioavailability. Bioavailability in pharmacology reflects the ability of a medicinal substance to be absorbed in the body. It is generally assumed that passing drugs through the intestinal epithelium (a monolayer of cells) is a major barrier to the drug in its pathway into the circulatory system.

The bioavailability of the glycyram substance was determined *in vitro* on a Caco-2 cell model reproducing most of the properties and characteristics of differentiated intestinal epithelial cells. The biopharmaceutical classification system (BCS) for active substances has been put into practice in the pharmaceutical sector of Ukraine. According to the existing BCS, the active substances are divided into 4 classes by their solubility in different media and permeability.

Aim. To determine which class of the biopharmaceutical classification system glycyram belongs to.

Materials and methods. The procedure for determining the permeability on a Caco-2 cell culture consisted of the following steps: cell cultivation, incubation of cells on a microporous filter (preparation of the test system), determination of the test suitability of the system (measurement of transepithelial electrical resistance, method calibration), determination of the permeability of the standardized substance glycyram compared to the internal standard – propranolol, quantitative determination of the test substance permeability by the HLC method with an UV or MS detector.

Results and discussion. During the experiment using the Caco-2 monolayer the average permeability value of glyceram (7.755 ± 0.517) – E-08 cm/sec was found. These data indicate that the glycyram substance has a low permeability through the epithelial layer of the intestine (less than 50 %). Considering the results of the previous studies showing a high solubility of glycyram and its low permeability it is possible to refer glycyram to class 3 according to the biopharmaceutical classification system.

Conclusions. The results of the studies obtained substantiate the feasibility of using glycyram-based dosage forms that would avoid passing the barrier of enterocytes of the small intestine, in particular pessaries, gels or creams.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* root extract; glycyram; biopharmaceutical classification system; bioavailability

Л. Н. Малоштан, О. М. Шаталова, О. А. Рухмакова, Л. А. Шакина

Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины

Использование клеток линии Caco-2 для прогнозирования биодоступности ксенобиотиков

Введение. На базе проблемной лаборатории морфофункциональных исследований НФаУ проведено исследование биопроницаемости стандартизированной субстанции глицирам. Глицирам – это тритерпеновый гликозид, выделенный из корня солодки голой, который имеет широкий спектр фармакологической активности. Однако выраженность активности зависит от многих фармакокинетических характеристик препарата, в частности от его биодоступности. Биодоступность в фармакологии отражает способность лекарственного вещества усваиваться в организме. Принято считать, что прохождение лекарств через кишечный эпителий (монослой клеток) является главным барьером для препарата на его пути проникновения в систему кровообращения. Определение биодоступности субстанции глицирам проведено в условиях *in vitro* на модели клеток линии Caco-2, воспроизводящих большинство свойств и характеристик дифференцированных эпителиальных клеток кишечника. В фармацевтическом секторе Украины внедрена в практику биофармацевтическая система классификации (БСК) действующих веществ. Согласно существующей БСК действующие вещества по их растворимости и проницаемости разделены на 4 класса.

Целью исследования было определить, к какому классу биофармацевтической системы классификации относится глицирам.

Материалы и методы. Процедура определения проницаемости на культуре клеток Caco-2 состояла из следующих этапов: культивирование клеток, инкубирование клеток на микропористом фильтре (подготовка тест-системы), определение тест-пригодности системы (измерение трансэпителиального сопротивления, калибровка метода), определение проницаемости исследуемой субстанции по сравнению с внутренним стандартом пропранолола гидрохлоридом, количественное определение проницаемости исследуемой субстанции методом ВЖХ с УФ или МС-детектором.

Результаты. В ходе проведенного эксперимента с использованием монослоя культуры клеток Caco-2 установлено среднее значение проницаемости глицирама ($7,755 \pm 0,517$) E-08 см/с. Эти данные свидетельствуют, что субстанция глицирам имеет низкую проницаемость через эпителиальный слой кишечника (менее 50 %). Учитывая ранее установленную высокую растворимость глицирама и его низкую проницаемость, глицирам согласно биофармацевтической системе классификации можно отнести к 3 классу веществ.

Выводы. Полученные результаты исследований обосновывают целесообразность использования глицирама как основу лекарственных форм, которые бы избегали преодоления барьера энтероцитов тонкого кишечника, в частности пессариев, гелей, кремов.

Ключевые слова: экстракт корня солодки; глицирам; биофармацевтическая система классификации; биодоступность

Вступ. Гліцирам – моноамонійна сіль гліциризинової кислоти, отримана з коренів солодки голої (*Glycyrrhiza glabra*). Активна речовина кореня солодки – гліциризинова кислота (гліциризин), тритерпеновий глікозид [1], який має широкий спектр фармакологічної активності [2, 3, 4]. Однак виразність активності залежить від багатьох фармакокінетичних характеристик препарату, зокрема від біодоступності. Біодоступність у фармакології відображає здатність лікарської речовини засвоюватися в організмі [5, 6].

У процесі розробки лікарських засобів можна встановити ступінь абсорбції субстанції лікарського засобу шляхом вимірювання проникності на штучних мембранах *in vitro* з використанням культур клітин. Клітини колоноректальної аденокарциноми людини Caco-2 є «золотим стандартом» для оцінки проникності лікарських речовин завдяки можливості відтворювати більшість властивостей і характеристик

диференційованих епітеліальних клітин кишечника [7, 8], що найчастіше використовується за кордоном з метою вивчення біодоступності *in vitro* [9]. Прийнято вважати, що проходження ліків через кишковий епітелій (моношар клітин) є головним бар'єром для препарату на його шляху проникнення в систему кровообігу. *In vivo* ентероцити становлять приблизно 90 % клітин епітелію кишечника і переважно відповідають за абсорбційну функцію. Ентероцит є високополяризованою клітиною. Апікальна поверхня шару ентероцитів звернена до люмінальної області кишечника, а базолатеральна поверхня контактує з током крові [10, 11].

Визначення біодоступності субстанції глицирам проведено саме з використанням лінії клітин Caco-2. Дана модель є надійним інструментом не лише для прогнозування кишкової проникності лікарської речовини, а й дозволяє встановлювати вплив допоміжних речовин і лікарської взаємодії на процеси всмок-

тування. Клітини Сасо-2, отримані з аденокарциноми товстого кишечника людини, за певних умов проявляють морфологічні та функціональні властивості, аналогічні ентероцитам кишечника [9, 11, 12]. Клітини при культивуванні утворюють щільні контакти, експресують багато ферментів ворсистого шару, а також мають транспортні системи, притаманні ентероцитам тонкого кишечника, зокрема системи транспорту амінокислот, дипептидів, вітамінів і цитостатиків [12, 13].

У фармацевтичному секторі України впроваджена в практику біофармацевтична система класифікації (БСК) діючих речовин. Відповідно до існуючої БСК [14, 15] діючі речовини за їх розчинністю у різних середовищах і за проникністю розділені на 4 класи [6, 11, 16].

Оскільки існує різниця в коефіцієнтах проникності на епітеліоцитах Сасо-2 для одного і того ж препарату, при вимірюваннях у різних лабораторіях були обрані 10 маркерних сполук у Janssen Pharmaceutica. Для цих сполук визначили коефіцієнти проникності Lion Bioscience Inc. За ними будуються коригуючі криві проникності при підрахунку виміряні в будь-якій лабораторії [11].

Матеріали та методи. На базі проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень Національного фармацевтичного університету проведено дослідження біопроникності стандартизованого зразка субстанції гліцирам, яка є біологічно активною речовиною, виділеною з кореня солодки голої.

Процедура визначення проникності на культурі клітин Сасо-2 складалася з наступних етапів: культивування клітин, інкубування клітин на мікропористому фільтрі (підготовка тест-системи), визначення тест-придатності системи (вимір трансепітеліального електричного опору, калібрування методу), визначення проникності дослідної субстанції у порівнянні з внутрішнім стандартом – пропранололу гідрохлоридом, кількісне визначення проникності дослідної субстанції методом ВРХ з УФ або МС-детектором.

Підготовка тест-системи до визначення проникності (вирощування культури клітин Сасо-2 на пористому інсерті) проводилася впродовж 24 діб. Стан і цілісність моношару контролювали за допомогою вимірювання електричного опору моношару Сасо-2 за допомогою трансепітеліального вольтметра Milliscell ERS-2 з використанням вимірювальної камери. Калібрування методу вивчення проникності речовин в умовах *in vitro* через моношар клітинної лінії Сасо-2 проводилося за допомогою вимірювання транспорту тест-зразка субстанції пропранолол через епітеліальний моношар у вибраному годинному інтервалі. Визначення концентрації досліджуваної речовини, яка проникла через моношар, здійснювалося хроматографічним методом. Коефіцієнт проникності моношару Сасо-2 для тест-зразка субстанції пропранололу гідрохлориду обчислювали за формулою та порівнювали отримане значення зі стандартними. За даними літератури пропранололу гідрохлорид є маркерною сполукою, що належить до 1 класу БСК [11, 14]. До того ж він інертний по відношенню до гліцираму.

Опір вимірювався на 3-ю, 7-у, 9-у, 11-у, 14-у, 17-у, 21-у добу після засіву клітинної культури на інсерт. Величина опору моношару визначалася в Ом із корекцією на опір порожнього (безклітинного моношару) інсерту. Для проведення дослідження було підготовлено 4 інсerti з моношаром Сасо-2. Після вимірювання опору моношару Сасо-2 розраховували коефіцієнт проникності моношару Сасо-2 для субстанції гліцираму.

Результати та їх обговорення. Після 20-ти денного культивування справжній опір моношару Сасо-2 на обраних для експерименту інсеридах становив в середньому $367,500 \pm 14,121$ Ом. Отримана величина опору відповідає даним, наведеним у літературі та підтверджує готовність моношару для вивчення адсорбції розчину субстанцій [10].

Відповідно до методичних рекомендацій [15] для калібрування методу у якості препарату порівняння було обрано речовину з високою проникністю через моношар клітинної лінії Сасо-2 (пропранололу гідрохлорид).

Для визначення концентрації субстанції пропранололу гідрохлориду хроматографічним методом були відібрані проби в пронумеровані віалки. Номер віалки відповідає номеру проби. Отримані дані представлені у табл. 1-2.

Розраховані коефіцієнти проникності наведені в табл. 2.

Наведені дані свідчать, що отримане середнє значення проникності для субстанції пропранололу гідрохлориду задовольняє умовам валідації моношару Сасо-2 та підтверджує адекватність застосованої моделі, а також збереження властивостей моношару клітинної лінії Сасо-2 під час проведення вимірювань проникності досліджуваної субстанції.

У даному експерименті вивчення проникності стандартизованої субстанції гліцираму через моношар клітинної лінії Сасо-2 проводилося одночасно з калібрувальними вимірами. В експериментальних інсеридах знаходився розчин субстанції пропранололу гідрохлориду 100 мкг/мл + розчин субстанції гліцираму 100 мкг/мл. Для визначення концентрації суб-

Таблиця 1

Концентрація субстанції пропранололу гідрохлориду у вибраному інтервалі часу

Тест-зразок	Віалка, №	C_0 (мкг/мл)	Через 30 хв (мкг/мл)
Пропранолол	2	92,12042607	
	3	92,12042607	
	4		1,694717056
	5		1,49102083
	6		1,45676056
	7		1,60938704

Примітка: C_0 – початкова концентрація субстанції пропранололу гідрохлориду у віалках № 2, № 3; $C_{30 \text{ хв}}$ – концентрація субстанції пропранололу гідрохлориду у віалках №№ 4-7 через 30 хвилин експозиції.

Таблиця 2

Коефіцієнт проникності субстанції пропранололу гідрохлориду

Пропранолол	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4
Q, М	6,53E-009	5,75E-009	5,62E-009	6,21E-009
Q, нМ (10 ⁻⁹)	6,534730687	5,74928986	5,61718422	6,20570309
dQ/dt	3,63E-003	3,19E-003	3,12E-003	3,45E-003
c ₀ , нМ	3,55E-007	3,55E-007	3,55E-007	3,55E-007
P, см/с	1,70E-005	1,50E-005	1,70E-005	1,50E-005
M ± m	1,60E-005 ± 0,058*			

Примітка: P – коефіцієнт кишкової проникності, см/с; C₀ – вихідна концентрація досліджуваної субстанції в донорному (апикальному) відсіку, М; dQ/dt – швидкість зміни концентрації досліджуваної субстанції в акцепторному відсіку, нМ/с; M – середнє арифметичне значення коефіцієнта проникності P, см/с; t – помилка середнього арифметичного.

* – Отриманий коефіцієнт проникності задовольняє умовам валідації моношару Сасо-2 [10].

Таблиця 3

Концентрація субстанції пропранололу гідрохлориду у вибраному інтервалі часу

Тест-зразок	Віалка, №	C ₀ (мкг/мл)	Через 30 хв (мкг/мл)
Гліцирам	2	88,42505417	
	3	88,42505417	
	4		0,0066
	5		0,0083
	6		0,0107
	7		0,0066

Таблиця 4

Коефіцієнт проникності субстанції гліцираму

Гліцирам	Проба 5	Проба 6	Проба 7	Проба 8
Q, М	7,97E-012	1,00E-011	1,30E-011	7,97E-012
Q, нМ (10 ⁻⁹)	0,007965666	0,010035482	0,01302469	0,00796567
dQ/dt	4,43E-006	5,58E-006	7,24E-006	4,43E-006
c ₀ , нМ	107,4514894	107,4514894	107,451489	107,451489
P	6,86E-008	8,65E-008	6,86E-008	8,65E-008
M ± m	7,755 ± 0,517 E-08 см/с			

Примітка: P – коефіцієнт кишкової проникності, см/с; C₀ – вихідна концентрація досліджуваної субстанції в донорному (апикальному) відсіку, М; dQ/dt – швидкість зміни концентрації досліджуваної субстанції в акцепторному відсіку, нМ/с; M – середнє арифметичне значення коефіцієнта проникності P, см/с; t – помилка середнього арифметичного.

станції гліцираму хроматографічним методом (метод завалідовано) були відібрані проби №№ 4-7 в пронумеровані віалки (4,5,6,7). Отримано такі дані (табл. 3).

Розраховані коефіцієнти проникності наведені в табл. 4.

Таким чином, в експерименті з використанням моношару Сасо-2 з характеристиками, що задовольняють стандартним вимогам, отримано середнє значення проникності гліцираму (7,755 ± 0,517)E-08 см/с. Отримане значення свідчить, що субстанція гліцираму має низьку проникність через епітеліальний шар кишечника (менше 50 %). Враховуючи результати попередніх досліджень, в яких була встановлена висока розчинність гліцираму, його можна віднести згідно з БСК до 3 класу [11].

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Вперше проведено визначення проникності субстанції гліцираму в умовах *in vitro* через моношар

клітинної лінії Сасо-2 з одночасним використанням тест – зразка субстанції пропранололу гідрохлориду.

2. Встановлено коефіцієнт проникності для субстанції гліцираму, який дорівнює 7,755 ± 0,517 E-08 см/с.

3. Результати представленого експерименту свідчать про те, що субстанція гліцираму належить до категорії речовин, які мають низьку проникність через епітеліальний шар кишечника (менше 50 %).

4. Отримані дані обґрунтовують більшу доцільність використання на основі гліцираму саме лікарських форм, які б минали бар'єр ентероцитів тонкого кишечника, зокрема песаріїв, гелів або кремів.

Перспективи подальших досліджень: експериментально визначити, як впливають різні домішки на біодоступність гліцираму. Вивчити можливість підвищення біодоступності гліцираму можна шляхом додавання фосфоліпідних наночастинок [5].

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аммосов А. С., Литвиненко В. И. Природные тритерпеновые соединения родов *Glycyrrhiza* L. и *Meristotropis* Fisch. et Mey : обзор. *Фармаком*. 2002. № 4. С. 30–48.
2. Рухмакова О. А., Ярних Т. Г. Перспективи використання солодки голої в якості імуномодуючого засобу у педіатрії. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. № 1 (14). С. 47–49. URL: <http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/24730/22212> (дата звернення: 15.08.2020).
3. Шакина Л. О., Малоштан Л. М. Фармакологічне вивчення мазі з екстрактом кореня солодки голої на моделі неалергічного контактного дерматиту у шурів. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доповідей І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 263–265.
4. Фармацевтична композиція у формі стоматологічного гелю з репаративною дією : пат. на корисну модель 95891 Україна. № у 201408185 ; заявл. 21.07.14 ; опубл. 12.01.15, Бюл. № 1. 5 с.
5. Биодоступность пероральных лекарственных форм и способы ее повышения / О. М. Ипатова и др. *Биомедицинская химия*, 2010. Т. 56, Вып. 1, С. 101–119. DOI: <https://doi.org/10.18097/pbmc20105601101> (дата обращения: 15.08.2020).
6. Головенко М. Я., Баула О. П., Борисюк І. Ю. Біофармацевтична класифікаційна система. Київ, 2010. 300 с.
7. Малоштан Л. М., Шаталова О. М., Шакина Л. О. Використання клітинних культур в біофармацевтичних дослідженнях. *The Third International scientific congress of scientists of Europe* : Proceedings of the III International Scientific Forum of Scientists “East–West”, January 11, 2019. Vienna, 2019. 1253 p.
8. Применение биологической модели для оценки кишечной проницаемости in vitro монослоя эпителиальных клеток Caco-2 / И. Е. Шохин и др. *Биомедицина*. 2012. № 3. С. 91. URL: <https://journal.scbmt.ru/jour/article/view/1166/940> (дата обращения: 17.08.2020).
9. Application of a Human Intestinal Epithelial Cell Monolayer to the Prediction of Oral Drug Absorption in Humans as a Superior Alternative to the Caco-2 Cell Monolayer / T. Takenaka et al. *J Pharm Sci*. 2016. № 105 (2). P. 915–924. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.11.035> (Date of access: 15.08.2020).
10. Bock U., Flotto T., Haltner E. Validation of cell culture models for the intestine and the blood-brain barrier and comparison of drug permeation. *ALTEX*. 2004. Vol. 21, Sup. 3. P. 57–64.
11. Биофармацевтическая модель оценки взаимозаменяемости воспроизведенных ЛС по их метаболизму и элиминации (BDDCS) / Г. В. Раменская и др. *Биомедицина*. 2011. № 2. С. 50. URL: <https://journal.scbmt.ru/jour/article/view/642> (дата обращения: 17.08.2020).
12. The Caco-2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics / Y. Sambay et al. *Cell Biology and Toxicology*. 2005. Vol. 21, Issue 1. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10565-005-0085-6> (Date of access: 15.08.2020).
13. Good Caco-2 cell culture practices / M. Natoli et al. *Toxicology in Vitro*. 2012. Vol. 26, Issue 8. P. 1243–1246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.03.009> (Date of access: 15.08.2020).
14. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств : метод. указ. / сост.: И. Б. Бондарева и др. Москва : МЗСР РФ, 2008. 21 с.
15. Проведення порівняльних досліджень in vitro для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії : метод. рек. / авт. кол.: В. Т. Чумак та ін. Київ : Моріон, 2007. 30 с.
16. Гуреева С. М., Альбедхані О. С., Грошовий Т. А. Застосування біофармацевтичної системи класифікації у розробці нових лікарських препаратів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 3 (19). С. 38–43. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2015.3.52383> (дата звернення: 17.08.2020).

REFERENCES

1. Ammosov, A. S., Litvinenko, V. I. (2002). *Farmakom*, 4, 1–8.
2. Rukhmakova, O. A., Yarnykh, T. G. (2014). *Aktualni pytannia farmatsevychnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 1 (14), 47–49.
3. Shakina, L. O., Maloshtan, L. M. (2018). Proceeding from *Mekhanizmy rozvytku patolohichnykh protsesiv i khvorob ta yikhnia farmakolohichna korektsiia: tezy dopovidei I nauk.-prakt. internet-konf. z mizhnar. uchastiu (18 zhovt. 2018 r.)*. (pp. 263–265). Kharkiv.
4. Yarnykh, T. G., Rukhmakova, O. A., Maloshtan, L. M., Yatsenko, O. Yu., Babenko, I. O. (2015). Ukraine. Patent na korysnu model № 95891 МРК А61К36/48, А61К9/06, А61R31/12. *Вісник*, 1, 5.
5. Ipatova, O. M., Torhovskaia, T. I., Medvedeva, N. V., Prozorovskii, V. N. (2010). *Biomeditsinskaia khimiia*, 56 (1), 101–119. doi: <https://doi.org/10.18097/pbmc20105601101>.
6. Holovenko, M. Ya., Baula, O. P., Borysiuk, I. Yu. (2010). *Biofarmatsevychna klasyfikatsiina sistema*. Kyiv, 300.
7. Maloshtan, L. M., Shatalova, O. M., Shakina, L. O. (2019). The Third International scientific congress of scientists of Europe: *Proceedings of the III International Scientific Forum of Scientists «East–West» (January 11, 2019)*. Vienna.
8. Shokhin, I. E., Kulinich, Yu. I., Ramenskaia, H. V., Kukes, V. H. (2012). *Biomeditsina*, 3, 91. Available at: <https://journal.scbmt.ru/jour/article/view/1166/940>.
9. Takenaka, T., Harada, N., Kuze, J., Chiba, M., Iwao, T., Matsunaga, T. (2016). Application of a Human Intestinal Epithelial Cell Monolayer to the Prediction of Oral Drug Absorption in Humans as a Superior Alternative to the Caco-2 Cell Monolayer. *J Pharm Sci.*, 105 (2), 915–924. doi: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2015.11.035>.
10. Bock, U., Flotto, T., Haltner, E. (2004). Validation of cell culture models for the intestine and the blood-brain barrier and comparison of drug permeation. *ALTEX*, 21 (3), 57–64.
11. Ramenskaia, H. V., Shokhin, I. E., Savchenko, A. Yu., Kulinich, Yu. I., Davidova, K. S. (2011). *Biomeditsina*, 2, 50.

12. Sambay, Y., De Angelis, I., Ranaldi, G. et al. (2005). The Caco-2 cell line model of the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biology and Toxicology*, 21, 1-26. doi: <https://doi.org/10.1007/s10565-005-0085-6>.
13. Natoli, M., Leoni, B. D., D'Agnano, I., Zucco, F., Felsani, A. (2012). Good Caco-2 cell culture practices. *Toxicology in Vitro*, 26 (8), 1243-1246. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.03.009>.
14. Bondareva, I. B. et al. (2008). *Otchenka bioekvivalentnosti lekarstvennykh sredstv: metod. ukaz.* Moscow: MZSR RF, 21.
15. Chumak, V. T. et al. (2007). *Provedennia porivnialnykh doslidzhen in vitro dlia pidverdzhennia ekvivalentnosti likarskykh zasobiv u tverdii dozovanii formi systemnoi dii : metod. rek.* Kyiv: Morion, 30.
16. Hureieva, S. M., Albedkhani, O. S., Hroshovyi, T. A. (2015). *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky*, 3 (19), 38-43. doi: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2015.3.52383>.

Відомості про авторів

Малоштан Л. М., докторка біол. наук, професорка, завідувачка кафедри фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1904-9579>

Шаталова О. М., кандидатка мед. наук, доцентка кафедри фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: Shatalov_leha@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4292-6042>

Рухмакова О. А., докторка фармац. наук, доцентка кафедри технології ліків, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: rukhlakovaolga@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8573-8965>

Шакина Л. О., кандидатка биол. наук, доцентка кафедри фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6166-6680>

Information about authors:

Maloshtan L. M., Doctor of Biology (Dr. habil), professor, head of the Department of Physiology and Human Anatomy, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1904-9579>

Shatalova O. M., Candidate of Medicine (Ph.D), associate professor of the Department of Physiology and Human Anatomy, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: Shatalov_leha@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4292-6042>

Rukhlakova O. A., Doctor of Pharmacy (Dr. habil), associate professor of the Department of Technology of Drugs, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: rukhlakovaolga@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8573-8965>

Shakina L. O. Candidate of Biology (Ph.D), associate professor of the Department of Physiology and Human Anatomy, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6166-6680>

Сведения об авторах:

Малоштан Л. Н., доктор биол. наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии и анатомии человека, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1904-9579>

Шаталова О. М., кандидат мед. наук, доцент кафедры физиологии и анатомии человека Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: Shatalov_leha@ukr.net. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4292-6042>

Рухмакова О. А., доктор фармац. наук, доцент кафедры технологии лекарств, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: rukhlakovaolga@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8573-8965>

Шакина Л. А. кандидат биол. наук, доцент кафедры физиологии и анатомии человека, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: physio@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6166-6680>

Надійшла до редакції 17.02.2020 р.