

T. S. Zhulai

National University of Pharmacy

THE PRECLINICAL STUDY OF A NEW NASAL SPRAY WITH THE ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES: THE EFFECT ON THE LEUKOTRIENE-INDUCED INFLAMMATION

The use of medicines of the local action with complex effects on the pathogenic cascade of acute rhinosinusitis (ARS) is expedient. Farmak Joint-Stock Company (Ukraine) has developed a new original dosage form of a nasal spray, which contains an aqueous solution of the known pharmaceutical substance Enisamium Iodide (EI). The presence of the effect on the leukotriene link inflammation in EI can determine the high rate of the antiexudative action development in the topical (intranasal) application. This may be useful for pathogenetic therapy of ARS on the background of acute respiratory viral infections taking into account the potential effectiveness for nasal congestion relief.

Aim. To substantiate experimentally the expediency of application of a new nasal spray with EI under conditions of leukotriene-induced exudative inflammation.

Materials and methods. A new nasal spray EI (JSC Farmak (Ukraine)) – “Amizon” – with the active substance concentration of 10 mg/ml was chosen as the study object. Ibuprofen – “Nurofen” (Reckitt Benckiser Helchere International Limited (UK)), film-coated tablets, 200 mg – was used as the reference drug and was administered once daily in the dose of 48 mg/kg intragastrically. The study of anti-inflammatory properties of EI (nasal spray, 10 mg/ml) in the external (epicutaneous) application was performed on white nonlinear rats of both genders in the experimental zymosan-induced inflammation development. The anti-inflammatory activity (AIA) of EI (nasal spray, 10 mg/ml) compared to Ibuprofen was assessed in percentage in dynamics in 0.5, 1 and 2 hours of observation.

Results. According to the results of the studies conducted EI in the dosage form of a nasal spray in the active substance concentration of 10 mg/ml on the model of zymosan-induced inflammation of the rat foot showed the anti-inflammatory properties. According to the degree of its anti-inflammatory properties EI was not inferior to the reference drug Ibuprofen, but even exceeded its activity as of the 30th minute of observation after zymosan injection. The result obtained allows suggesting the presence of high rate of the antiexudative action in the experimental object in the topical (intranasal) application in the treatment of patients with ARS due to the ability to inhibit the lipoxygenase route of the arachidonic acid metabolism.

Conclusions. The presence of the anti-inflammatory activity of Enisamium Iodide (nasal spray) has been proven under conditions of leukotriene-induced inflammation reproduction on the model of the zymosan edema. By expression of the anti-inflammatory action during all periods of observation EI is not inferior to the reference drug Ibuprofen, exceeding the activity of the classical NSAID by 1.5 times as of the 30th minute after the pathology onset. The anti-inflammatory activity of Enisamium Iodide in the dosage form of nasal spray experimentally substantiates the expediency and perspective of its further preclinical studies.

Key words: acute respiratory infections; acute rhinosinusitis; Enisamium Iodide (nasal spray); Ibuprofen; leukotriene-induced inflammation; anti-inflammatory activity

Т. С. Жулай

Національний фармацевтичний університет

Доклінічне дослідження нового назального спрею з протизапальними властивостями: вплив на лейкотрієнзумовлене запалення

Застосування лікарських препаратів місцевої дії з комплексним впливом на патогенетичний каскад гострого риносинуситу (ГРС) є доцільним. На ПАТ «Фармак» (Україна) розроблено нову оригінальну лікарську форму назального спрею, який вміщує водний розчин фармацевтичної субстанції Енісаміуму йодиду. Наявність у Енісаміуму йодиду впливу на лейкотрієнову ланку запалення може зумовити високу швидкість розвитку антиексудативної дії при топічному (інтраназальному) застосуванні. Це може бути корисним для патогенетичної терапії ГРС на тлі ГРВІ з урахуванням потенційного зменшення такого симптому, як назальна обструкція.

Мета роботи: експериментальне обґрунтування доцільності застосування нового назального спрею, який містить діючу речовину Енісаміуму йодид, за умов розвитку лейкотрієнзумовленого ексудативного запалення.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження обрано новий вітчизняний назальний спреї Енісаміуму йодиду (виробництва ПАТ «Фармак» (Україна)) «Амізон», який вміщує діючу речовину у концентрації 10 мг/мл. У якості референтного об'єкту був використаний Ібупрофен («Нурофен») – таблетки, вкриті плівковою оболонкою, 200 мг, який застосовувався у дозі 48 мг/кг внутрішньошлунково. Дослідження протизапальних властивостей Енісаміуму йодиду 10 мг/мл (спрей назальний) при нашкірному нанесенні за умов розвитку експериментального зимозанового запалення було проведено на білих нелінійних щурах. Протизапальну активність (ПЗА) Енісаміуму йодиду 10 мг/мл у формі назального спрею в порівнянні з Ібупрофеном оцінювали у відсотках у динаміці через 0,5, 1 та 2 години спостереження.

Результати. За результатами проведених досліджень Енісаміум йодид у формі назального спрею у концентрації 10 мг/мл на моделі зимозанового запалення стопи у щурів проявив протизапальні властивості, за ступенем

яких не тільки не поступився препарату порівняння Ібупрофену, а й навіть перевершив його активність станом на 30-у хвилину спостережень. Отриманий результат дозволяє припустити наявність високої швидкості антиексудативної дії у дослідного засобу за умов його топичного застосування у лікуванні хворих на ГРС, що зумовлено спроможністю до інгібування ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти.

Висновки. Доведена наявність ПЗА Енісаміуму йодиду 10 мг/мл (спрей назальний) за умов відтворення лейкотриєнзумовленого запалення на моделі зимозанового набряку. За вираженістю протизапальної дії в усі терміни спостереження Енісаміуму йодид не поступається препарату порівняння Ібупрофену, перевершуючи активність класичного НПЗП у 1,5 рази станом на 30-у хвилину спостережень. Встановлена ПЗА Енісаміуму йодиду у формі назального спрею експериментально обґрунтовує доцільність та перспективність його подальших доклінічних досліджень.

Ключові слова: гострий риносинусит; Енісаміуму йодид назальний спрей; Ібупрофен; лейкотриєнзумовлене запалення; протизапальна активність

Т. С. Жулай

Национальный фармацевтический университет

Доклиническое исследование нового назального спрея с противовоспалительными свойствами: влияние на лейкотриенобусловленное воспаление

Применение лекарственных препаратов местного действия с комплексным воздействием на патогенетический каскад острого риносинусита (ОРС) является целесообразным. На ПАО «Фармак» (Украина) была разработана новая оригинальная лекарственная форма назального спрея, который содержит водный раствор фармацевтической субстанции Энисамиума йодида. Наличие у Энисамиума йодида влияния на лейкотриеновое звено воспаления может обусловить высокую скорость развития антиэкссудативного действия при топическом (интраназальном) применении. Это может быть полезным для патогенетической терапии ОРС на фоне ОРВИ с учетом потенциального уменьшения такого симптома, как назальная обструкция.

Цель работы: экспериментальное обоснование целесообразности применения нового назального спрея, который содержит действующее вещество Энисамиума йодид, в условиях развития лейкотриенобусловленного экссудативного воспаления.

Материалы и методы. Объектом исследования был выбран новый отечественный назальный спрей Энисамиума йодид (производства ПАО «Фармак» (Украина)) «Амизон», содержащий действующее вещество в концентрации 10 мг/мл. В качестве референтного объекта был использован Ибупрофен («Нурофен») – таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 200 мг, которые применялись в дозе 48 мг/кг внутривенно. Исследование противовоспалительных свойств Энисамиума йодида 10 мг/мл (спрей назальный) при наружном (накожном) нанесении в условиях развития экспериментального зимозанового воспаления было проведено на белых нелинейных крысах. Противовоспалительную активность (ПВА) Энисамиума йодида 10 мг/мл в виде назального спрея по сравнению с Ибупрофеном оценивали в процентах в динамике через 0,5, 1 и 2 часа наблюдения.

Результаты. По результатам проведенных исследований Энисамиума йодида в форме назального спрея в концентрации 10 мг/мл на модели зимозанового воспаления стопы у крыс проявил противовоспалительные свойства, по степени которых не только не уступал препарату сравнения Ибупрофену, но даже превосходя активность по состоянию на 30-ую минуту наблюдения. Полученный результат позволяет предположить наличие высокой скорости антиэкссудативного действия у исследуемого средства в условиях его топического применения при лечении больных с ОРС, что обусловлено способностью к ингибированию липооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты.

Выводы. Доказано наличие ПВА Энисамиума йодида 10 мг/мл (спрей назальный) в условиях лейкотриенобусловленного воспаления на модели зимозанового отека. По выраженности противовоспалительного действия во все сроки наблюдения Энисамиума йодид не уступает препарату сравнения Ибупрофену, превосходя активность классического НПВП в 1,5 раза по состоянию на 30-ую минуту наблюдения. Установленная ПВА Энисамиума йодида в форме назального спрея экспериментально обосновывает целесообразность и перспективность его дальнейших доклінічних досліджень.

Ключевые слова: острый риносинусит; Энисамиума йодид назальный спрей; Ибупрофен; лейкотриенобусловленное воспаление; противовоспалительная активность

Treatment and prevention of the most widespread group of infectious diseases, such as acute respiratory viral infections (ARIs), is inextricably connected to the rational choice of not only the appropriate medicines, but also the dosage form. The last should provide an optimal treatment effect of the medicinal substance or complex of substances [1-4]. The upper respiratory tract condition plays an essential role in ARIs since the upper respiratory tract can become the "entrance gates of infection". Thus, it seems advisable to use medicines with a complex effect on the pathogenetic cas-

cade of the infectious-inflammatory process that will act as local action, in particular, with the intranasal route of administration. Farmak Joint-Stock Company (Ukraine) has developed a new original dosage form of a nasal spray, which contains an aqueous solution of the known pharmaceutical substance Enisamium Iodide (EI). Today EI has registered in Ukraine under the trade names "Amizon" (in tablets) and "Amizonchik" (in syrup). It is used for the treatment and prevention of a variety of infectious disease, in particular ARIs, influenza, measles, rubella, chicken pox, etc. [5, 6]. Most of these

Table 1

Distribution of experimental animals in conditions of the experimental zymosan-induced inflammation development (n=30)*

Animal groups		The number (n=30)*	Study object	Dose, concentration	Route of administration
1	Control pathology	10	Saline	–	Intragastrically
2	Test drug	10	Enisamium Iodide (Nasal spray)	10 mg/ml	Epicutaneous
3	Reference drug	10	Ibuprofen	48 mg/kg**	Intragastrically

Note. * n – number of the experimental animals; ** 48 mg/kg – ED₅₀ for the anti-inflammatory activity [10].

infections have airborne transmission. Therefore, the use of the dosage form, which provides the delivery the active substance to the focus of pathogen penetration, will have an inhibitory effect on the primary links of infectious inflammation.

It is known that viral adhesion and the subsequent viral replication in the nasal mucosa cells cause viral destruction and excessive production of pro-inflammatory mediators and cytokines. The lipoxigenase pathway activation of the arachidonic acid degradation, preferably of leukocyte origin, with the leukotriene formation is the cause of the conjugate vascular stage of the infectious inflammatory process. Leukotrienes play a key role in the cell-mediated immune response to viruses. LTC₄, LTV₄, LTE₄ are excreted by labrocytes and basophils in large quantities. They can be the cause of vasoconstriction and the permeability increase of mainly venules by direct contraction of endothelial cells of blood vessels; they can promote hypersecretion of bronchial mucous membranes and play an important role in the pathogenesis of anaphylaxis. LTV₄ is a chemoattractant, stimulates adhesion and chemotaxis of polymorphonuclear blood cells. LTV₄ enhances exocytosis of proteolytic enzymes, synthesizes and releases of oxygen free radicals [7]. The effect on the prostaglandin-induced and leukotriene-induced exudative inflammation presents in the anti-inflammatory action of EI. This effect is due to stabilization of the cellular and lysosomal membranes, slowing down of basophil degranulation, the antioxidant action, and normalization of the level of prostaglandins, cyclic nucleotides and energy metabolism in the inflammatory focus. Therefore, the presence of the effect on the leukotriene link inflammation in EI can determine the high rate of the antiexudative action development in the topical (intranasal) application, and it is very useful for the pathogenetic therapy of acute rhinosinusitis (ARS) on the background of ARI taking into account the potential effectiveness for nasal congestion relief.

The **aim** of the work was to substantiate experimentally the expediency of application of a new na-

sal spray with EI under conditions of leukotriene-induced exudative inflammation.

Materials and methods

A new nasal spray EI (JSC Farmak (Ukraine)) – “Amizon” – with the active substance concentration of 10 mg/ml was chosen as the study object. This concentration was chosen taking into account the results of the previous stage of the EI (nasal spray) experimental study [8].

Ibuprofen – “Nurofen” (Reckitt Benckiser Helchere International Limited (UK)), film-coated tablets, 200 mg – was used as the reference drug and was administered once daily in the dose of 48 mg/kg intragastrically (ED₅₀ by the anti-inflammatory activity) [9, 10].

The study of anti-inflammatory properties of EI (nasal spray, 10 mg/ml) in the external (epicutaneous) application was performed on white non-linear rats of both genders weighing 150-180 g in the experimental zymosan-induced inflammation development [7, 10]. Distribution of experimental animals to the groups is shown in Tab. 1.

The test animals were kept in the Central Research Laboratory of the National Pharmaceutical University (CRL of NPhU) in accordance with the standard sanitary norms on the required diet [11-13]. All studies were conducted in accordance with the general ethical principles of experiments in animals. These principles are regulated by the Directive 2010/63/EU meeting laws, regulations and administrative provisions of the EU states concerning protection of animals used for experimental and other scientific purposes [12] and the Law of Ukraine No. 3447-IV (21.02.2006, with amendments) [13].

At beginning of the experiment the solution of EI (10 mg/ml) was administered to the second animal group to the foot region of the right hind paw below the hair follicle zone, so that the fluid evenly covered the entire animal foot, including the ankle joint. To do this, EI solution (10 mg/ml) was removed from the nasal spray bottle and the tampon, with which the solution was applied to the foot, was im-

Table 2

The effect of Enisamium Iodide (nasal spray, 10 mg/ml) on the course of the zymosan edema in rats (n = 30)*

Parameter	Control pathology		Enisamium Iodide, 10 mg/ml	Ibuprofen, 48 mg/kg
	n			
	10		10	10
<i>Initial values</i>				
Foot volume, cm ³	1.38±0.04		1.31±0.04	1.35±0.03
<i>In 30 minutes</i>				
Foot volume, cm ³	1.86±0.06		1.68±0.05	1.76±0.05
Edema volume	cm ³	0.48±0.02	0.37±0.02	0,41±0,01
	%	34.8±1.5	28.4±0.6 ^{1/2}	30,5±0,4 ¹
AIA, %	—		18.6±1.8 ²	12.6±1.1
<i>In 1 hour</i>				
Foot volume, cm ³	1.97±0.06		1.74±0.05	1.81±0.05
Edema volume	cm ³	0.60±0.03	0.43±0.01	0.46±0.02
	%	43.3±2.1	33.1±1.0 ¹	34.1±1.4 ¹
AIA, %	—		23.6±2.3	21.1±3.3
<i>In 2 hours</i>				
Foot volume, cm ³	1.83±0.05		1.65±0.05	1.69±0.04
Edema volume	cm ³	0.45±0.03	0.34±0.01	0,34±0,01
	%	33.0±2.0	26.4±0.6 ¹	25,0±0,8 ¹
AIA**, %	—		19.9±1.8	24.3±2.4

Notes:

- 1) *n – number of the experimental animals;
- 2) ¹ – differences are reliable with animals of the control group (p<0.05);
- 3) ² – differences are reliable with the animals received the reference drug Ibuprofen (p<0.05);
- 4) **AIA – the anti-inflammatory activity.

pregnated. Previously, the rat's paw was cleaned of various contaminants. Next, we carefully observed for the animals to exclude the possibility of licking the test solution from the skin surface.

A single intragastric administration of Ibuprofen in the dose of 48 mg/kg in suspension was performed in the third animal group. The suspension was previously prepared on a saline using the stabilizer Tween-80. The first (control) animal group received a saline in an equivalent volume.

The pathology was reproduced in all animals an hour after the application of the test objects. Aseptic exudative inflammation was induced by a subplantar injection of 2 % zymosan suspension (Fluka, Switzerland) in the dose of 0.1 ml [7] to the right hind paw.

The edema volume was measured on the right hind paw 30 min before the flogogen injection and in dynamics in 0.5, 1 and 2 hours using a digital plethysmometer (IITC Life Science, USA). The edema volume was displayed in cm³.

The anti-inflammatory activity (AIA) was assessed in a percentage by the rate of edema reduction in experimental animals received the drug under study

compared to the control group of animals. The AIA was calculated by the formula:

$$AIA^* = \frac{\Delta V_{\text{control}}^1 - \Delta V_{\text{test}}^2}{\Delta V_{\text{control}}^1} \times 100 \%,$$

where *AIA – is the anti-inflammatory activity, %; $\Delta V_{\text{control}}^1$ – is the average percentage of the edema volume in the control group; ΔV_{test}^2 – is the average percentage of the edema volume in the test group.

The statistical processing of the results obtained was carried out by the methods of variation statistics using the Student's t-test and the non-parametric methods of analysis (Mann-Whitney U-test) and STATISTICA 7.0, StatPlus 2009 and MS Excel 2007 software [14-16]. The results obtained were presented in the form of comparative tables with the results of different groups.

Results and discussion

Indicators of the antiexudative action of EI (10 mg/ml) in the epicutaneous application compared to Ibuprofen in the intragastric administration on the model of zymosan-induced inflammation in

rats by their ability to prevent the exudative edema development compared to the control group of animals were determined during the study. The results are shown in Tab. 2.

The experimental data show that the active formation of the corresponding exudative inflammatory reaction on flogogen in the animal paws occurred within two hours in the control group after reproduction of the inflammatory reaction induced by the zymosan injection. Thus, in comparison with the initial values the foot volume increased by 34.8 % in 30 min, it caused the appearance of edema in the volume of 0.48 cm³. Then after one hour from the start of the experiment the edema increased by 1.3 times to 43.3 % of the initial volume, which was 0.60 cm³. Then in two hours of the experiment the edema decreased to 33.0 %, which was 0.45 cm³ (Tab. 2).

According literature data the mechanism of the pro-inflammatory action of flogogen of the polysaccharide structure (including zymosan) is due to the increased vascular permeability and a significant increase of the leukocyte response – “respiratory (oxidative) burst”, and, consequently, lipoxygenase branch activation of the eicosanoid metabolism, especially in blood cells [17]. The dynamics of changes in reproduction of the zymosan edema in our experiment was in strict accordance to the above data. The vascular response intensification plays a leading role in forming the exudative edema, which was reflected by an increase in the rat foot volume after the zymosan injection.

According to the data presented in Tab. 2 the study object showed a moderate antiexudative effect. Thus, under its effect in 30 min of observation the edema volume decreased statistically significantly compared to the control group and reached 24.8 % of the initial values, which was 0.37 cm³ on average. Subsequently, this value was also significantly lower than in the control group. After the first hour of observation it was 33.1 % (0.43 cm³), and for the second hour it was 26.4 % (0.34 cm³).

The experimental data resulted in the following calculated parameters of the study object by AIA: AIA was 18.6 % in 30 min after the zymosan injection, 23.6 % for the first hour and 19.9 % for the second hour.

In the course of the study the reference drug Ibuprofen showed moderate antiexudative properties on the model of the experimental zymosan-induced inflammation. Thus, compared to the control group it reliably reduced edema of the animal paws in 30 min after the zymosan injection, the edema volume was 30.5 % (0.41 cm³), then in one hour of the experiment it was 34.1 % (0.46 cm³), and in two hours it was 25.0 % (0.34 cm³) of the initial values, respectively (Tab. 2). In this connection, AIA

of Ibuprofen was 12.6 % in 30 min, 21.1 % – in one hour, and 24.3 % – in two hours of the experiment.

The statistical analysis of the results indicates that the calculated AIA level of EI was statistically significant higher than the activity of Ibuprofen in 30 min of observation, and then it was statistically insignificant higher than the activity of Ibuprofen in the first hour of observation, further the results were at the same level without any statistically significant differences (Tab. 2).

Thus, EI (nasal spray, 10 mg/ml) at this experimental stage showed a higher antiexudative action than the reference drug Ibuprofen, it was manifested in a statistically higher level of activity in 30 min of the pathology development. The ability of EI to suppress the zymosan-induced inflammation may be due to its specific antileukotriene properties, which needs to be clarified in the course of additional experimental studies.

Therefore, according to the results of the studies conducted EI in the dosage form of a nasal spray in the active substance concentration of 10 mg/ml on the model of zymosan-induced inflammation of the rat foot showed the anti-inflammatory properties. According to the degree of its anti-inflammatory properties EI was not inferior to the reference drug Ibuprofen, but even exceeded its activity as of the 30th minute of observation after zymosan injection. The result obtained allows suggesting the presence of high rate of the antiexudative action in the experimental object in the topical (intranasal) application in the treatment of patients with ARS due to the ability to inhibit the lipoxygenase route of the arachidonic acid metabolism.

CONCLUSIONS

1. The presence of the anti-inflammatory activity of Enisamium Iodide (nasal spray) has been proven under conditions of leukotriene-induced inflammation reproduction on the model of the zymosan edema. The drug in the dose of 10 mg/ml significantly inhibits development of foot edema in rats in the early phase of exudation (in 30 min). This indicates its depressant effect on the lipoxygenase link of inflammation.

2. By expression of the anti-inflammatory action during all periods of observation Enisamium Iodide is not inferior to the reference drug Ibuprofen, exceeding the activity of the classical NSAID by 1.5 times as of the 30th minute after the pathology onset.

3. The anti-inflammatory activity of Enisamium Iodide in the dosage form of nasal spray (10 mg/ml) experimentally substantiates the expediency and perspectivity of its further preclinical studies.

Conflict of interests: authors have no conflict of interests to declare.

References

1. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists / W. J. Fokkens, V. J. Lund, J. Mullol et al. // *Rhinol.* – 2012. – Vol. 50 (1). – P. 1–12. <https://doi.org/10.4193/rhino50e2>
2. Systematic Review of Phytotherapy for Acute Rhinosinusitis / A. K. Koch, P. Klose, R. Lauche [et al.] // *ForschKomplementmed.* – 2016. – N 23 (3). – P. 165–169. <https://doi.org/10.1159/000447467>
3. Infectious Diseases Society of IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults / A. W. Chow, M. S. Benninger, I. Brook [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 54 (8). – P. e72–e112. <https://doi.org/10.1093/cid/cis370>
4. Наказ МОЗ України № 85 від 11.02.2016 р. «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Гострий риносинусит». – МОЗ України, 2016.
5. Інструкція для медичного застосування препарату «Амізон®» [Електронний ресурс]. – Наказ МОЗ України № 921 від 28.04.2017 р. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=31489>
6. Інструкція для медичного застосування препарату «Амізончик®» [Електронний ресурс]. – Наказ МОЗ України № 1155 від 31.10.2016 р. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=41130>
7. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рек. / под ред. А. В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 528 с.
8. Дослідження дозозалежності антиексудативної дії нового назального спрею з протизапальними властивостями / Т. С. Жулай, С. К. Шебеко, І. А. Зупанець // *Клінічна фармація.* – 2017. – Т. 21, № 4. – С. 11–17. <https://doi.org/10.24959/cphj.17.1446>
9. Інструкція для медичного застосування препарату «Нурофен» [Електронний ресурс]. – Наказ МОЗ України № 461 від 12.06.2017 р. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=43903>
10. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / Я. А. Сигидин, Г. Я. Шварц, А. П. Арзамасцев, С. С. Либерман. – М.: Медицина, 1988. – 240 с.
11. Good Laboratory Practice / OECD principles and guidance for compliance monitoring – OECD, 2005.
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official J. of the European Union Luxembourg.* – 2010. – L. 276. – P. 33–79.
13. Закон України №3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами «Про захист тварин від жорстокого поводження» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.president.gov.ua/documents/3447-iv-3976>
14. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
15. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – 3-е изд. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
16. Сергиенко, В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
17. The significance of selecting phytopreparations for individualized therapy of acute rhinosinusitis / I. A. Zupanets, T. S. Zhulai, T. S. Sakharova, O. O. Andrieva // *Клінічна фармація.* – 2017. – Т. 21, № 4. – С. 52–59. <https://doi.org/10.24959/cphj.17.1444>

References

1. Fokkens, W. J., Lund, V. J., Mullol, J., Bachert, C., Alobid, I., Baroody, F., ... Wormald, P. J. (2012). EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology Journal*, 50(1), 1–12. <https://doi.org/10.4193/rhino50e2>
2. Koch, A. K., Klose, P., Lauche, R., Cramer, H., Baasch, J., Dobos, G. J., & Langhorst, J. (2016). A Systematic Review of Phytotherapy for Acute Rhinosinusitis. *Complementary Medicine Research*, 23(3), 165–169. <https://doi.org/10.1159/000447467>
3. Chow, A. W., Benninger, M. S., Brook, I., Brozek, J. L., Goldstein, E. J. C., Hicks, L. A., ... File, T. M. (2012). Executive Summary: IDSA Clinical Practice Guideline for Acute Bacterial Rhinosinusitis in Children and Adults. *Clinical Infectious Diseases*, 54(8), 72–112. <https://doi.org/10.1093/cid/cis370>
4. Nakaz MOZ Ukrainy №85 vid 11.02.2016. (2016). «Unifikovanyi klinichniy protokol pervynnoi, vtryynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Hostryi rynosynusyt». – MOZ Ukrainy.
5. Nakaz MOZ Ukrainy №921 vid 28.04.2017. (2017). Instruktssiia dlia medychnoho zastosuvannia preparatu «Amizon®». Available at: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=31489>
6. Nakaz MOZ Ukrainy №1155 vid 31.10.2016. (2016). Instruktssiia dlia medychnoho zastosuvannia preparatu «Amizonchik®». Available at: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=41130>
7. Stefanov, A. V. (2002). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. Kyiv: «Avitsena», 528.
8. Zhulay, T. S., Shebeko, S. K., & Zupanets, I. A. (2017). The study of the dose-dependent antiexudative effect of a new anti-inflammatory nasal spray. *Klinična farmaciâ*, 21(4), 11–16. <https://doi.org/10.24959/cphj.17.1446>
9. Nakaz MOZ Ukrainy № 461 vid 12.06.2017. (2017). Instruktssiia dlia medychnoho zastosuvannia preparatu «Nurofien». Available at: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=43903>
10. Sigidin, Ya. A., Shvarts, G. Ya., Arzamastsev, A. P., Liberman, S. S. (1988). *Lekarstvennaya terapiya vospalitel'nogo protsessâ: eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya protivovospalitel'nykh preparatov*. Moscow: Meditsina, 240.
11. Good Laboratory Practice. (2005). *OECD principles and guidance for compliance monitoring*.
12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. (2010). *Official Journal of the European Union Luxembourg*, 276, 33–79.
13. Zakon Ukrainy №3447-IV vid 21.02.2006 r. zi zminamy «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia». (2006). Available at: <http://www.president.gov.ua/documents/3447-iv-3976>

14. Lapach, S. N., Chubenko, A. V., Babich, P. N. (2000). *Statističeskie metody v mediko-biologičeskih issledovaniyah s ispolzovaniem Excel*. Kyiv: Morion, 320.
15. Rebrova, O. Yu. (2006). *Statističeskiy analiz meditsinskih dannyih. Primenenie paketa prikladnyh programm STATISTICA*. Moscow: MediaSfera, 312.
16. Sergienko, V. I., Bondareva, I. B. (2006). *Matematičeskaya statistika v kliničeskih issledovaniyah*. Moscow: GEOTAR-Media, 304.
17. Zupanets, I. A., Zhulai, T. S., Sakharova, T. S., & Andrieieva, O. O. (2017). The significance of selecting phytopreparations for individualized therapy of acute rhinosinusitis. *Klinična farmaciâ, 21(4)*, 52–58. <https://doi.org/10.24959/cphj.17.1444>

Information about the authors / Відомості про авторів / Сведения об авторах

Zhulai T. S., teaching assistant of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-6190-3137>). E-mail: tszhulay2910@gmail.com

Жулай Т. С., асистент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-6190-3137>). E-mail: tszhulay2910@gmail.com

Жулай Т. С., ассистент кафедры клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-6190-3137>). E-mail: tszhulay2910@gmail.com

Mailing address: 27, Pushkinska str., Kharkiv, 61057, Ukraine, Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Tel.+380577063059

Адреса для листування: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ. Тел. +380577063059.

Адрес для переписки: 61057, г. Харьков, ул. Пушкинская, 27, кафедра клинической фармакологии и клинической фармации НФаУ. Тел. +380577063059

Надійшла до редакції 02.11.2018 р.