

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Бобокало Сергій Вікторович

УДК 615.456.1:615.451:615.072

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка складу і стандартизація технології рідких оральних та
ін'єкційних розчинів на основі дигідрокверцетину**

226-Фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

С.В. Бобокало

Науковий керівник Алмакаєва Людмила Григорівна, доктор фармацевтичних
наук, професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Бобокало С.В. Розробка складу і стандартизація технології рідких оральних та ін'єкційних розчинів на основі дигідрокверцетину. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226-Фармація. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена розробці та стандартизації складу і технології рідких оральних та ін'єкційних розчинів на основі дигідрокверцетину (ДГК) для лікування та профілактики серцево-судинних захворювань.

У вступі наведено актуальність теми, мету, завдання дослідження, відзначено наукову новизну та практичну значимість отриманих результатів.

Аналіз даних наукової літератури показав, що на сучасному рівні велику увагу приділяють природним біологічно активним речовинам (БАР), особливо тим, які мають широкий спектр фармакологічної дії та антиоксидантні властивості. Саме до таких БАР належить природний біофлавоноїд дигідрокверцетин (ДГК).

Важливою властивістю біофлавоноїдів є відсутність токсичної дії, тому навіть у великих дозах вони зазвичай не викликають будь-яких негативних реакцій. Відзначається також позитивний ефект від застосування цих сполук у вигляді дієтичних добавок (ДД) при різних серцево-судинних та нейродегенеративних захворюваннях.

У розділі 2 «Об'єкти та методи досліджень» обґрунтовано загальну концепцію досліджень. Представлений науково-методичний підхід до розробки оригінального ін'єкційного ЛЗ з ДГК, розроблено алгоритм досліджень з розробки складу та технології.

Вперше проведені дослідження із стандартизації діючої речовини. Першим етапом експериментальних досліджень було вивчення фізико-хімічних та технологічних властивостей субстанції ДГК з метою розробки

специфікації та вивчення її стабільності для розробки проекту МКЯ з подальшим використанням для створення оральних рідких та ін'єкційних форм. Методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) вперше розроблені оригінальні методики визначення супровідних домішок та кількісного визначення ДГК. Підібрані умови, де на хроматограмах випробуваного розчину спостерігаються піки ДГК та три піка домішок. Проведено ідентифікацію домішок: кверцетин, еріктол та дигідрокемпферол. Сторонні домішки регламентують наступним чином: вміст одиначної домішки не більше 4,0 %, сума усіх домішок - не більше 5,0 %. Такі дослідження є дуже важливими, оскільки проведеними попередніми фармакологічними дослідженнями було встановлено, що фармакологічна дія субстанції ДГК залежить від її чистоти.

Наведено характеристику допоміжних речовин, проаналізовано вимоги до створення ін'єкційних та оральних рідких розчинів. Згідно вимог ДФУ здійснено вибір методів дослідження для оцінки якості розроблюваних препаратів та фармацевтичної розробки.

У розділі 3 «Наукове обґрунтування необхідності розробки та впровадження на вітчизняний фармацевтичний ринок оригінального препарату дигідрокверцетину» проаналізовано асортимент лікарських засобів на основі біофлавоноїдів та проведено маркетингове дослідження фармацевтичного ринку щодо споживання таких препаратів. Встановлено, що на фармацевтичному ринку України відсутні розчинні форми ДГК для орального та парентерального застосування. Маючи унікальні біологічні властивості, ДГК має один недолік - це погана розчинність у воді, що є перешкодою при приготуванні ін'єкційної або рідкої оральної форми.

Досліджено ФР препаратів групи C05-Ангіопротектори та встановлено, що за 2008-2019 рр. умовна вартість однієї упаковки із даної групи зросла з 16,71 (2008 р.) грн до 124,28 грн (2019 р.). тобто у 7,5 рази. Також відмічається позитивна динаміка зростання обсягів продажів ЛП з 115,62 млн грн до 216,17 млн грн (на 87,0%) по цій групі препаратів. У доларах США

зростання відповідних показників дорівнювало 83,8% (з 4512,6 до 8295,15 тис. дол. США).

У четвертому розділі «Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу парентерального розчину на основі дигідрокверцетину» наведено результати експериментальних досліджень з обґрунтування складу парентеральних розчинів.

Першим етапом досліджень було вивчення розчинності субстанції ДГК у воді та неводних розчинниках. З метою підвищення розчинності ДГК були проведені НДР направлені на вибір системи модифікаторів розчинності, стабілізаторів, здатних забезпечити фізико-хімічну і мікробіологічну стабільність отриманих розчинів.

ДГК, як і багато інших флавоноїдів представляє собою слабку органічну кислоту, оскільки до його складу входять гідроксильні групи здатні дисоціювати, причому дисоціювати може кілька гідроксильних груп. Встановлено, що для одержання водних розчинів ДГК необхідні допоміжні речовини із лужним значенням рН. Досліджувалися амінокислоти: L-аргінін та L-лізін та речовини лужної природи: меглумін, трометамол.

Важливими параметрами реакції, що визначають структури комплексних сполук флавоноїду і розглянутих лужних агентів є рН розчину, використання певного розчинника, розраховане мольне співвідношення допоміжної речовини і флавоноїду.

Для стабілізації водного розчину ДГК досліджувались високомолекулярні сполуки. Встановлено, що ПВП стабілізує іонний асоціат за рахунок гідрофільно-гідрофобної взаємодії, тому і був рекомендований нами в якості допоміжної речовини, без якого одержання стабільного розчинного комплексу ДГК і L-аргініну, або ДГК і меглуміну, або ДГК і трометамолу не представляється можливим.

Здійснено фармацевтичну розробку і стандартизацію оригінального ін'єкційного розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл. При фармацевтичній розробці в першу чергу було обрано кількість АФІ та допоміжних речовин

(ДР), вивчені їх фізико-хімічні властивості та можливі фактори нестабільності. В результаті проведених досліджень для розчину «ДГК-Arg» вибрані допоміжні речовини: L-аргінін, ПВП, натрію метабісульфіт, натрію едетат.

Проведений теоретично-експериментальний пошук розчинників для одержання крапель для сублінгвального прийому на основі біофлавоноїду ДГК. Була досліджена розчинність субстанції ДГК в неводних розчинниках, таких як: гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленоксиди (ПЕГ-300 та ПЕГ-400), твіни та їх суміші.

Позитивні результати із стабільності розчинів були отримані при використанні в якості розчинників пропіленгліколю та гліцерину фармакопейної якості. З урахуванням фізико-хімічних властивостей ДГК та розчинників запропонований спосіб одержання розчинів: 10 % ДГК на гліцерині та 20 % на пропіленгліколі. Досліджено декілька температурних режимів розчинення з підбором тривалості й швидкості перемішування, а також послідовність введення субстанції.

Було встановлено, що швидкість розчинення ДГК збільшується при нагріванні розчинника, в'язкість розчину зменшується, що позитивно впливає на сам процес розчинення та фільтрацію розчинів. В якості первинного пакування рекомендовані полімерні флакони на 15 мл.

Визначено фізико-хімічні, мікробіологічні характеристики розчинів, встановлено термін придатності 2 роки. На дані розчини розроблено та затверджено технічні умови ТУ У 10.8-36988678-001:2013.

Обґрунтовано та розроблено оптимальну промислову технологію одержання сублінгвальних розчинів ДГК на неводних розчинниках, які зареєстровані в Україні як дієтичні добавки і випускаються фармацевтичними фірмами під назвами «ДГК-Р» та «ДГК-Г».

У розділі 5 «Розробка і стандартизація технології одержання ін'єкційних розчинів ДГК» представлені дослідження із фармацевтичної

розробки технологічного процесу одержання лікарських засобів у вигляді водних розчинів ДГК та їх стандартизації.

В ході фармацевтичної розробки були досліджені особливості технології приготування розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» у водному середовищі. На основі теоретичних та експериментальних досліджень встановлені температурні та часові режими приготування, порядок загрузки інгредієнтів, визначені межі рН. Стабільність ЛЗ залежить від багатьох факторів – температури зберігання, впливу світла, навколишнього середовища, способу приготування, ДР, лікарської форми, первинного пакування тощо.

Для встановлення взаємного впливу розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg» і фільтруючих матеріалів нами вивчалися фільтруючі мембрани виготовлені з полієфірсульфону фірми «Домнік Хантер» (Англія), капрону («МІФІЛ») і нейлону («Ultipor N66», «Pall»), з розміром пор 0,45 мкм (попередня фільтрація) і 0,2 мкм (стерилізуюча фільтрація). При виборі фільтрів враховувалися як характеристика матеріалу фільтрів, так і властивості отриманих розчинів. Усі досліджені фільтри рекомендовані для фільтрації розчинів.

Важливим аспектом при створенні ЛЗ є вибір відповідного первинного пакування з урахуванням фізико-хімічних властивостей ін'єкційних розчинів. Нами було експериментально доведено придатність всіх видів досліджуваного первинного пакування, а саме: ампул по 5 мл зі світлозахисного скла типу ИП-5С1 та USP 1. Стабільність вивчали протягом 27 місяців. Встановлено, що показники якості обох розчинів у досліджуваних видах первинного пакування не виходили за межі проектів МКЯ. В результаті чого, ми рекомендували всі види дослідженого пакування.

Однією з основних вимог до якості парентеральних ЛЗ є їхня стерильність, яка забезпечується одним із технологічних етапів виробництва. З метою забезпечення стерильності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл проведені дослідження різних режимів стерилізації. Рекомендовано два

режими стерилізації: 100 °С протягом 30 хвилин та «стерилізуюча фільтрація». Вони гарантують досягнення стерильності препарату, у той же час не викликають зміни фізико-хімічних властивостей розчину.

З урахуванням ризиків для якості готового продукту для проведення процесу валідації виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл встановлені критичні точки технологічного процесу.

Вперше стандартизовані показники якості препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл і розроблені методики їх аналізу. За результатами валідаційних досліджень доведена коректність методик ідентифікації, визначення супровідних домішок та розробленої оригінальної методики кількісного визначення. Методики були апробовані при контролі якості препарату, виготовленого в умовах промислового виробництва АТ «Лекхім-Харків».

Проведено вивчення стабільності зразків препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл одержаних в умовах дослідно-промислового виробництва. Рекомендовано зберігати при кімнатній температурі в захищеному від світла місці. Термін придатності 2 роки.

Визначена гостра токсичність препарату «ДГК-Arg». Випробування проведено на білих нелінійних статевозрілих щурах обох статей при внутрішньочеревному введенні в різних дозах. Аналіз отриманих даних дозволяє віднести препарат «ДГК-Arg» за ступенем небезпечності до відносно нешкідливих препаратів (VI клас).

Новизна роботи полягає в наступному. Вперше досліджені та встановлені показники якості субстанції ДГК з метою стандартизації. Розроблені оригінальні методики кількісного визначення та супровідних домішок для встановлення умов і терміну зберігання та використання в якості субстанції для одержання ін'єкційних і рідких оральних розчинів.

Вперше розроблено склад та технологію оригінальних ін'єкційних препаратів в ампулах по 5 мл під умовною назвою «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg»

на основі природного дигідрокверцетину. Склади та технології даних препаратів захищені патентами на винахід № 117389, № 117075 та №117076.

Розроблено склад та технології одержання неводних розчинів ДГК в формі крапель для сублінгвального прийому, які зареєстровані в Україні як дієтичні добавки і випускаються під назвами «ДГК-Р» та «ДГК-G».

Визначено фізико-хімічні, мікробіологічні характеристики розчинів для орального застосування «ДГК-Р» та «ДГК-G» та парентерального розчину «ДГК-Arg» у вигляді концентрату для приготування розчину для інфузій.

Ключові слова: біофлавоноїд, дигідрокверцетин, оральні розчини, стандартизація, антиоксидант, ін'єкційні розчини, допоміжні речовини, лужні агенти, склад, виробничий процес, методика, валідація.

Список публікацій здобувача

1. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Доля В. Г. Контроль механічних включень у розчині дигідрокверцетину для ін'єкцій. *Фармаком.* 2017. № 4. С. 42-46. (Особистий внесок: експериментальні роботи з напрацювання зразків препарату та проведення контролю розчину з наявності механічних включень; оформлення та підготовка статті до друку).

2. Bobokalo S., Almakaieva L., Panfilova H., Tsurikova O. Results of structural analysis of medical appointments of queretetin drugs and its derivatives in Ukraine. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2019. №6(22). С. 30-37.(Особистий внесок: експериментальні роботи з розрахунків; оформлення та підготовка статті до друку).

3. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Розробка технології одержання ін'єкційного розчину високоочищеного дигідрокверцетину. *The scientific heritage, Budapest, Hungary.* 2020. VOL 1. No 52 (52). С.15-18. (Особистий внесок: експериментальні роботи з розробки складу та технології одержання розчину, напрацювання зразків препарату, підготовка статті до друку).

4. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Перспективи створення дієтичних добавок антиоксидантної і капіляропротекторної дії на основі високочистого біофлавоноїда дигідрокверцетина. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*: зб. наук. пр. 2016 р. Харків. С. 90-93. (Особистий внесок: експериментальні роботи з розробки складу та технології оральних розчинів на неводних розчинниках; оформлення та підготовка статті до друку).

5. Остапечь Марина, Бобокало Сергій. «ДГК-КАРДІО» - комплексний підхід для кращої роботи серця і судин. *Современная фармация*. Сентябрь. 2019. С.73-77.

6. Остапечь Марина, Бобокало Сергій. Продукт номер один для серця і судин – дигідрокверцетин. *Современная фармация*. Август. 2019. С.34-37.

7. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 117389 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. Бегунова Н.В. № а 2016 07155; заявл. 01.07.2016; опубл. 25.07.2018. - Бюл. № 14. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

8. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 118075 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. № а 2018 03421; заявл. 01.07.2016; опубл. 12.11.2018. Бюл. № 21. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

9. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 118076 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. № а 201803422; заявл. 01.07.2016; опубл. 12.11.2018. - Бюл. № 21. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

10. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г.. Дигідрокверцетин - препарати нового покоління. *Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи* : матеріали

VIII Нац. з'їзду фармацевтів України. 13-16 верес. 2016 р. Харків, 2016. Т. 1. С. 324.

11. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Разработка способа получения раствора дигидрокверцетина. «*International Trends in Science and Technology*»: International scientific conference «World science», Warsaw. Poland. 17 October. RS Global S. z O.O., Warsaw. Poland. 2017. Vol. 5. С. 70-74.

12. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Дигідрокверцетин для парентерального застосування. Управління якістю в фармації: матеріали XI наук.-практ. конф. з міжнар. Участю. 19 трав. 2017 р. Харків. 2017. С. 29.

13. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г.. Розробка складу парентерального розчину високочистого дигідрокверцетину. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали I міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. 5 квітня 2018 р. Харків, НФаУ, 2018. С. 22-23.

14. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Панфілова Г. Л. Дослідження динаміки споживання лікарських препаратів, що використовуються у лікуванні хронічної венозної недостатності в Україні. *Сучасна Фармація: Історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування дня фармацевтичного працівника України. 19-20 вересня, 2019 р. Харків. 2019. С.70-71.

15. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Особливості розробки складу ін'єкційного препарату на основі дигідрокверцетину. *Науковий підхід до сфери практичної косметології: актуальні питання й тренди*: матеріали міжнар. наук.-практ. Конф. 11 берез. 2020 р. Харків. 2020. С. 223.

16. Bobokalo S. V., Snehryova D. V., Almakaieva L. G. Methods for creating stable aqueous solutions from differently soluble substanties. *Innovative development of science and education. Abstracts of the 4th International scientific and practical conference*. ISGT Publishing House. Athens, Greece. 2020. P. 84-86.

ABSTRACT

Bobokalo S.V. Development of the composition and standardization of the procedure for liquid oral and injectable solutions based on dihydroquercetin. – Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Ph.D by specialty 226-Pharmacy. — National Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

This dissertation is concerned with the development and standardization of the composition and technology of liquid oral and injectable solutions based on dihydroquercetin (DHQ) for treatment and prevention of cardiovascular diseases.

The introduction presents the rationale, the purpose and objectives of the study, notes the scientific novelty and practical significance of the results obtained.

Analysis of scientific literature data has shown that at the current level, much attention is paid to natural biologically active substances (BASs), especially those with a wide range of pharmacological action and antioxidant properties. These BASs include the natural bioflavonoid dihydroquercetin (DHQ).

An important property of bioflavonoids is the absence of toxic effects, so even in large doses, they usually do not cause any negative reactions. There is also a positive effect from the use of these compounds in the form of dietary supplements (DSs) in treatment of various cardiovascular and neurodegenerative diseases.

In Section 2 "Study objects and methods", the general study concept has been justified. A scientific and methodological approach to the development of an original injection drug with DHQ has been presented, and a research algorithm for the development of composition and procedure has been developed.

For the first time, studies on the active substance standardization have been conducted. The first stage of experimental studies was investigating the physico-chemical and technological properties of the DHQ substance with the purpose to develop a specification and study its stability for the development of the QCM

project, with its further use for the creation of oral liquid and injectable forms. Using high-performance liquid chromatography (HPLC), original methods for determining particulate matter and DHQ assay have been developed for the first time. Conditions have been selected where DHQ peaks and three impurity peaks are observed on the test solution chromatograms. The following impurities have been identified: quercetin, erictol, and dihydrocampferol. Impurities are regulated as follows: single impurity content is not more than 4.0 %, total impurities are not more than 5.0 %. Such studies are very important, since previous pharmacological studies have established that the pharmacological effect of the DHQ substance depends on its purity.

The characteristics of excipients have been given, and the requirements for creating injection and oral liquid solutions have been analyzed. According to the requirements of the SPU, the selection of research methods for assessing the quality of the developed drugs and pharmaceutical development has been made.

In Section 3 "Scientific justification of the need to develop and introduce the original drug dihydroquercetin to the domestic pharmaceutical market", the range of medicines based on bioflavonoids has been analyzed, and the marketing study of the pharmaceutical market on the consumption of such drugs has been conducted. It was established that there were no soluble forms of DHQ for oral and parenteral use on the pharmaceutical market of Ukraine. With its unique biological properties, DHQ has one drawback, namely, poor water solubility, which is an obstacle in the preparation of an injectable or liquid oral form.

The FR of drugs of the C05 Group-Angioprotectors has been investigated, and it has been found that in 2008-2019 the notional price of one package from this group increased from UAH 16.71 (2008) to UAH 124.28 (2019), i.e., 7.5 times. In addition, a positive trend in the growth of drug sales volumes from UAH 115.62 mln to UAH 216.17 mln (by 87.0%) for this group of drugs has been noted. In USD, the growth of the corresponding indicators was 83.8% (from 4512.6 to 8295.15 ths. USD).

In the fourth Section "Theoretical and experimental justification of the composition of dihydroquercetin-based parenteral solution",

the results of experimental studies to substantiate the composition of parenteral solutions are presented.

The study phase was investigating the solubility of the DHQ substance in water and in non-aqueous solvents. With the purpose to increase the solubility of DHQ, research has been carried out, aimed at selecting a system of solubility modifiers, stabilizers able to ensure the physico-chemical and microbiological stability of the obtained solutions.

Similar to many other flavonoids, DHQ is a weak organic acid, since it contains hydroxyl groups able to dissociate; at that, several hydroxyl groups are able to dissociate. It has been found that excipients with the alkaline pH value are required to obtain aqueous solutions of DHQ. Amino acids: L-arginine and L-lysine and alkaline substances: meglumine, trometamol have been studied.

Important reaction parameters that determine the structures of complex flavonoid compounds and alkaline agents under consideration are the pH of the solution, the use of a certain solvent, and the calculated molar ratio of the excipient and flavonoid.

High-molecular compounds have been studied to stabilize the aqueous solution of DHQ. It has been found that PVP stabilizes the ion-associate due to hydrophilic-hydrophobic interaction, so we recommended it as the excipient, without which obtaining a stable soluble complex of DHQ and L-arginine, or DHQ and meglumine, or DHQ and trometamol, is impossible.

Pharmaceutical development and standardization of the original injectable solution "DHQ-Arg" in 5 ml ampoules have been carried out. In pharmaceutical development, first of all, the amount of APIs and excipients (DR) has been selected, their physico-chemical properties and potential instability factors have been studied. As a result of the studies conducted, the following excipients have been selected for the DHQ-Arg solution: L-arginine, PVP, sodium metabisulfite, sodium edetate.

The theoretical and experimental search for solvents for obtaining sublingual drops based on the bioflavonoid DHQ has been carried out. The solubility of the DHQ substance in non-aqueous solvents, such as glycerol, propylene glycol, polyethylene oxides (PEG-300 and PEG-400), twins and their mixtures, has been studied.

Positive results on the stability of solutions were obtained when using pharmacopoeial-quality propylene glycol and glycerol as solvents. With regard of the physical and chemical properties of DHQ and solvents, a method for obtaining solutions has been proposed: 10% DHQ on glycerol and 20% on propylene glycol. Several temperature modes of dissolution with the selection of agitation duration and speed, and the substance introduction sequence, have been studied.

It has been found that the rate of DHQ dissolution increases when heating the solvent, the solution viscosity decreases, which positively affects the dissolution process and filtration of solutions. 15 ml polymer vials are recommended as primary packaging.

The physico-chemical and microbiological characteristics of the solutions have been determined, and the shelf life of 2 years has been established. Technical specifications TS U 10.8-36988678-001:2013 have been developed and approved for these solutions.

The optimal industrial technology for obtaining sublingual DHQ solutions based on non-aqueous solvents, which are registered in Ukraine as dietary supplements and are produced by pharmaceutical companies under the names "DHQ-R" and "DHQ-G", has been substantiated and developed.

Section 5 "Development and standardization of the procedure for obtaining DHQ injectable solutions" presents studies on pharmaceutical development of the production process for obtaining medicines in the form of aqueous solutions of DHQ and their standardization.

In the course of pharmaceutical development, the features of the procedure of preparation of "DHQ-Arg" and "DHQ-Meg" solutions in water environment have been studied. Based on theoretical and experimental studies, the temperature

and time modes of preparation, the order of loading ingredients, and the pH limits have been determined. The stability of drugs depends on many factors, such as storage temperature, light exposure, environment, method of preparation, DR, dosage form, primary packaging, etc.

To establish the mutual effect of DHQ-Arg and DHQ-Med solutions and filter materials, we studied filter membranes made of polyester sulfone manufactured by Domnick Hunter (England), capron (MIFIL) and nylon (Ultipor N66, Pall), with a pore size of 0.45 microns (pre-filtration) and 0.2 microns (sterilizing filtration). When choosing filters, both the characteristics of the filter material and the properties of the obtained solutions were taken into account. All the studied filters are designed to filter solutions.

An important aspect when creating a drug is the choice of suitable primary packaging, with regard of the physico-chemical properties of injectable solutions. We experimentally proved the suitability of all types of primary packaging under study, namely: ampoules of 5 ml made of light-proof glass of the IP-5S1 and USP 1 Type. Stability was studied for 27 months. It was found that the quality indicators of both solutions in the studied types of primary packaging did not go beyond the QCM projects. As a result, we recommended all types of studied packaging.

One of the main requirements to the quality of parenteral drugs is their sterility, which is ensured by one of the process production stages. With the purpose to ensure the sterility of the DHQ-Arg solution in 5 ml ampoules, studies of various sterilization modes have been carried out. Two sterilization modes are recommended: 100 °C for 30 minutes and "sterilizing filtration". They guarantee the achievement of sterility of the drug, while at the same time they do not cause changes in the physico-chemical properties of the solution.

With regard of the risks to the finished product quality, critical points of the process have been established for the process of validation of the production of the drug "DHQ-Arg" in 5 ml ampoules.

For the first time, the quality indicators of the drug "DHQ-Arg" in 5 ml ampoules have been standardized, and methods of their analysis have been developed. Based on the results of validation studies, the correctness of the methods of identification, determination of accompanying impurities and the developed original method of quantitative determination have been proved. The methods were tested during quality control of the drug manufactured in the conditions of industrial production of JSC "Lekhim-Kharkiv".

The stability of samples of the drug "DHQ-Arg" in 5 ml ampoules obtained under pilot production conditions has been studied. It is recommended to store at room temperature in a place protected from light. Shelf life is 2 years.

Acute toxicity of the drug "DHQ-Arg" has been determined. The test was performed on white nonlinear sexually mature rats of both sexes with intraperitoneal administration in different doses. Data analysis allows attributing the drug "DHQ-Arg" to relatively harmless drugs (Class VI) in terms of hazard rate.

The novelty of the thesis is as follows. For the first time, quality indicators of the DHQ substance have been studied and determined for the purpose of standardization. Original methods of assay and particulate matter have been developed to determine storage conditions and term, and the use as a substance for the production of injection and liquid oral solutions.

For the first time, the composition and procedure of original injectable drugs in 5 ml ampoules under the conditional name "DHQ-Arg" and "DHQ-Meg" based on natural dihydroquercetin have been developed. The compositions and procedures of these drugs are protected by patents for invention No. 117389 and No. 117075, No. 117076.

The composition and procedures for obtaining non-aqueous solutions of DHQ in the form of sublingual drops, registered in Ukraine as dietary supplements and produced under the names "DHQ-R" and "DHQ-G", have been developed.

Physico-chemical and microbiological characteristics of oral solutions "DHQ-R" and "DHQ-G" and parenteral solution "DHQ-Arg" in the form of concentrate for the preparation of a solution for infusions were determined.

Keywords: bioflavonoid, dihydroquercetin, oral solutions, standardization, antioxidant, injectable solutions, excipients, alkaline agents, composition, production process, methodology, validation.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	23
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ СТВОРЕННЯ РОЗЧИНІВ ДЛЯ ОРАЛЬНОГО ТА ІН'ЕКЦІЙНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НА ОСНОВІ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ (Огляд літератури)	32
1.1 Актуальність створення нових вітчизняних препаратів широкого спектру дії для профілактики, лікування та реабілітації ССЗ – основної причини смертності в Україні	32
1.2 Характеристика антиоксидантів природного походження та їх вплив на організм людини	35
1.3 Характеристика біофлавоноїдів та їх властивості	40
1.4 Серцево-судинні захворювання та їх лікування антиоксидантами	42
1.5 Обґрунтування необхідності розробки препаратів на основі дигідрокверцетину	44
1.5.1 Обґрунтування необхідності розробки оральних розчинів дигідрокверцетину	48
1.5.2 Обґрунтування необхідності розробки ін'єкційних лікарських засобів на основі дигідрокверцетину	49
1.6 Сучасний стан технології отримання оральних та ін'єкційних розчинів дигідрокверцетину	51
Висновки до розділу 1	55
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	56
2.1 Вибір загальної методології досліджень	56
2.2 Об'єкти дослідження	61

2.2.1	Фізико-хімічні властивості АФІ	61
2.2.2	Фізико-хімічні властивості допоміжних речовин, використаних при розробці складу і технології ДД та ЛЗ на основі ДГК	64
2.3	Методи оцінки фізико-хімічних характеристик основної сировини	68
2.4	Методи оцінки показників якості парентеральних розчинів	71
2.5	Методика визначення впливу фільтруючих матеріалів на розчини	71
2.6	Методика визначення вмісту розчиненого кисню	72
2.7	Розрахунок кількості вихідних речовин	72
2.8	Статистична обробка результатів дослідження	73
Висновки до розділу 2		74
РОЗДІЛ 3	НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ НЕОБХІДНОСТІ РОЗРОБКИ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ НА ВІТЧИЗНЯНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ РИНОК ОРИГІНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ	75
3.1	Дослідження динаміки продажів ангіопротекторів, які використовуються у лікуванні серцево-судинних захворювань і хронічної венозної недостатності Дослідження структури лікарських призначень препаратів кверцетину в Україні	75 82
Висновки до розділу 3		91
РОЗДІЛ 4	ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ	93
4.1	Дослідження фізико-хімічних і технологічних властивостей ДГК	93

4.1.1	Фізико-хімічні характеристики субстанції ДГК	94
4.2	Обґрунтування вибору допоміжних речовин для одержання розчину ДГК	97
4.3	Обґрунтування способу одержання розчинів ДГК	99
4.4	Визначення оптимальної кількості лужних агентів для одержання розчину ДГК	102
4.5	Вибір допоміжних речовин для одержання стабільного розчину ДГК	105
4.6	Вибір антиоксидантів для стабілізації розчину ДГК	108
4.7	Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу оральних розчинів ДГК	112
4.7.1	Визначення розчинності ДГК для розробки складу оральних розчинів	113
4.7.2	Розробка та стандартизація технології одержання розчинів ДГК	114
4.7.3	Вибір оптимального фільтруючого матеріалу для очищення оральних розчинів ДГК	116
4.7.4	Дослідження з вибору первинного пакування та його вплив на показники якості розчинів	119
Висновки до розділу 4		120
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА І СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО РОЗЧИНУ ДГК		122
5.1	Вивчення впливу технологічних параметрів приготування розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg»	122
5.1.1	Вивчення впливу порядку введення компонентів у розчин, часового і температурного режимів на стабільність ЛЗ	122

5.2	Вибір оптимального фільтруючого матеріалу для парентеральних розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg»	127
5.3	Вплив кисню повітря на стабільність розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg»	130
5.4	Вибір режиму стерилізації розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл	132
5.4.1	Дослідження стерильності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5мл	134
5.5	Дослідження впливу первинного пакування на показники якості розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg»	137
5.5.1	Визначення терміну придатності розчину «ДГК-Arg»	140
5.5.2	Підтвердження експлуатаційних якостей первинного пакування (показник «об'єм, що витягається»)	141
5.6	Визначення сумісності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл із розчинниками для інфузійного застосування	142
5.7	Технологічний процес одержання розчину «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл	144
5.7.1	Опис стадій технологічного процесу	145
5.7.2	Валідація процесу та його оцінка. Встановлення критичних точок технологічного процесу	151
5.8	Стандартизація показників якості та методик аналізу розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл	154
5.9	Обговорення результатів токсикологічних та специфічних фармакологічних досліджень ЛЗ «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл	159

	22
Висновки до розділу 5	159
ВИСНОВКИ	162
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	165
ДОДАТКИ	194

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ	—	активний фармацевтичний інгредієнт;
БАД	—	біологічно активна добавка;
ДГК	—	дигідрокверцетин;
ДД	—	дієтична добавка;
ДР	—	допоміжна речовина;
ДФУ	—	Державна Фармакопея України;
ЄФ	—	Європейська Фармакопея;
ЛЗ	—	лікарський засіб;
ЛФ	—	лікарська форма;
МКЯ	—	методи контролю якості;
НДР	—	науково-дослідна робота;
ОР	—	оральний розчин;
РХ	—	рідинна хроматографія;
ТШХ	—	тонкошарова хроматографія;
ХВН	—	хронічна венозна недостатність.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. За даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я провідні позиції за більшістю медико-статистичних показників, що характеризують захворюваність населення (первинна захворюваність, поширеність хвороб, смертність, тимчасова непрацездатність, інвалідність) як у світі, так і в Україні, зокрема, посідають серцево-судинні захворювання (ССЗ), в тому числі - хронічна венозна недостатність (ХВН), ішемічний інсульт та інфаркт міокарда. [28, 259].

Серцево-судинні захворювання є основною причиною смерті в усьому світі: ні з якої іншої причини щорічно не вмирає стільки людей, скільки від ССЗ [57, 259].

За оцінками, в 2016 році від ССЗ померло 17,9 мільйона чоловік, що склало 31% всіх випадків смерті в світі. 85% цих смертей сталося в результаті серцевого нападу та інсульту [28].

Більше 75% випадків смерті від ССЗ відбуваються в країнах з низьким і середнім рівнем доходу [28, 259].

У 2019 році від нозологій цього класу в світі померло близько 15 млн. осіб, перш за все, від ішемічної хвороби серця (8,76 млн. осіб) та інсульту (6,24 млн.). У Європі від серцево-судинних патологій щорічно помирає 4,35 млн. осіб. В Україні серцево-судинні захворювання мають 57,5 % (26,4 млн. осіб), з них – 9,6 млн. – працездатного віку [54, 56]. Внаслідок цих хвороб інвалідами щороку стають близько 14-15 осіб на кожні 10 тис. дорослого населення, а питома вага серцево-судинних патологій у загальній структурі смертності становить 65 % [28, 122].

ХВН та інші серцево-судинні захворювання можна запобігти шляхом вжиття заходів щодо таких факторів ризику, як вживання тютюну, нездорове харчування і ожиріння, відсутність фізичної активності і шкідливе вживання алкоголю, за допомогою стратегій, що охоплюють все населення.

Люди, які страждають ХВН або іншими ССЗ - піддаються високому ризику таких захворювань (в зв'язку з наявністю одного або декількох факторів ризику, таких як підвищений кров'яний тиск, діабет, гіперліпідемія, або вже розвиненого захворювання), потребують допомоги шляхом консультування і, при необхідності, прийому лікарських засобів [55, 98, 102].

Актуальність проблеми профілактики і лікування критичних станів обумовлена неухильно зростаючим рівнем захворюваності населення внаслідок ряду причин, що мають як фізіологічні, так і соціальні корені.

Надання швидкої, якісної допомоги населенню України залежить від наявності високоефективних лікарських засобів вітчизняного виробництва. Це, в першу чергу, стосується препаратів для превентивної медицини та екстреної допомоги при лікуванні ХВН, гострої серцевої недостатності, ішемічного інсульту та інфаркту міокарда.

На сучасному рівні велику увагу приділяють природним БАР, особливо тим, які мають широкий спектр фармакологічних властивостей. Саме до таких БАР належить природний біофлавоноїд дигідрокверцетин (ДГК). Багатогранна фармакологічна дія ДГК поряд із відсутністю шкідливого впливу на організм створює умови для більш широкого застосування його в медицині для лікування та профілактики захворювань [49, 102, 103, 108, 118, 121, 126].

Багаторічний досвід використання твердих оральних форм ДГК в клінічній практиці показав його недостатню ефективність, що обумовлена низькою біодоступністю в таких лікарських формах [136]. Одним із шляхів підвищення біодоступності ДГК є створення водорозчинних парентеральних або рідких оральних лікарських форм. Але створення таких форм пов'язано з рядом труднощів – відсутністю стандартизованої субстанції ДГК, поганою розчинністю та хімічною нестабільністю її у воді [50, 138, 141].

Тому проведення комплексних досліджень, спрямованих на стандартизацію субстанції ДГК, на вибір і з'ясування ролі допоміжних речовин і технологічних підходів в одержанні водних розчинів та їх

стабілізації для парентерального застосування є актуальними для вітчизняної фармацевтичної науки і практики.

Стандартизація та впровадження у виробництво нових ЛЗ на основі високоочищеного ДГК у вигляді розчинів дозволить поповнити асортимент препаратів ангіо- та кардіопротекторної дії перспективними препаратами для парентерального та орального застосування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного Фармацевтичного Університету (НФаУ) за темами: «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ державної реєстрації 0114U000945) та «Наукове та експериментальне обґрунтування складу і стандартизація технології рідких лікарських засобів для парентерального та орального застосування» (№ державної реєстрації 0118U000096).

Мета і завдання дослідження

Мета роботи – розробка та стандартизація складу та промислової технології ін'єкційних та рідких оральних засобів з високоочищеним природним біофлавоноїдом дигідрокверцетином.

Для досягнення цієї мети були сформульовані такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані наукової літератури щодо сучасного стану проблеми створення ін'єкційних та рідких оральних засобів з природним біофлавоноїдом дигідрокверцетином;
- провести аналіз продажів ЛЗ групи C05 - ангіопротектори та інших капіляростабілізуючих засобів;
- розробити методологічний підхід до створення ін'єкційних та рідких оральних засобів з ДГК;
- вивчити фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості субстанції (ДГК) та допоміжних речовин;

- розробити методи стандартизації субстанції ДГК, дослідити її аналітичну якість;
- вивчити фізико-хімічні властивості ДР та обґрунтувати якісний і кількісний склад для ін'єкційних та рідких оральних засобів з ДГК;
- розробити та стандартизувати технологію одержання ін'єкційних та рідких оральних засобів з ДГК, вивчити та обґрунтувати стабільність в процесі зберігання з метою встановлення терміну придатності;
- узагальнити результати фармакологічних досліджень;
- розробити відповідну нормативну документацію та провести апробацію технології в промислових умовах.

Об'єкт дослідження – діюча речовина ДГК, ДР (L-аргінін, трометамол, меглумін, ПВП), неводні розчинники (гліцерин, пропіленгліколь, ПЕГ-400), антиоксиданти (метабісульфіт і кислота аскорбінова); розроблювані ін'єкційні та оральні рідкі розчини з ДГК.

Предмет дослідження – розробка науково обґрунтованих складів та стандартизація промислових технологій виробництва ін'єкційних та оральних рідких розчинів з ДГК.

Методи дослідження

При виконанні роботи були застосовані наступні методи: органолептичні (зовнішній вигляд, колір), фізичні (гравіметрично визначали втрату в масі при висушуванні, за допомогою віскозиметра визначали в'язкість розчинів), фізико-хімічні фармакопейні методи. Якісний та кількісний склад розчинів досліджували за допомогою фізико-хімічних методів: РХ, абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій областях. Потенціометрично визначали рН для розчинів. Фармако-технологічні методи застосовували для дослідження впливу фільтруючих матеріалів на показники якості розчинів. Мікробіологічні дослідження при визначенні стерильності ін'єкційних розчинів. Фармакологічні дослідження проводили *in vitro* та *in vivo*. Обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою методів математичної статистики [140].

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше досліджені та встановлені показники якості субстанції ДГК з метою стандартизації. Розроблені оригінальні методики кількісного визначення та супровідних домішок для встановлення умов і терміну зберігання.

Вперше запропонована оригінальна технологія створення нових оральних розчинів на основі дигідрокверцетину. Розроблена промислова технологія одержання 10 % та 20 % розчинів ДГК на неводних розчинниках в полімерних флаконах-крапельницях по 15 мл.

Вперше запропонована технологія одержання ін'єкційних розчинів ДГК із лужними агентами: меглумін, L-аргінін, трометамол.

Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано склад та раціональну технологію одержання ін'єкційних розчинів ДГК у формі концентрату в ампулах по 5 мл під умовною назвою «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg». Підібрано склад допоміжних речовин, які забезпечують стабільність водних розчинів протягом терміну зберігання.

Розроблено та валідовано сучасні методики ідентифікації, кількісного визначення діючої речовини та супровідних домішок в ін'єкційному розчині «ДГК-Arg». Розроблено проект МКЯ.

Результатами токсикологічних досліджень підтверджена нешкідливість препаратів.

Наукова новизна складу та технології ЛЗ підтверджена патентами України на винаходи №118076 «Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину», №118075 «Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину», №117389 «Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину».

Практичне значення роботи полягає в наступному. В результаті проведених досліджень вперше вирішена проблема створення розчинних форм із важкорозчинної субстанції біофлавоноїда дигідрокверцетина на основі неводних розчинників для оральних розчинів та 1% ін'єкційних водних розчинів.

Вперше в Україні створені та впроваджені у виробництво вітчизняні технології одержання двох потужних антиоксидантів у вигляді оральних розчинів ДГК: 10 % розчин ДГК на гліцерині та 20 % розчин на пропіленгліколі. Технологія виробництва 10 % розчину ДГК під назвою «ДГК G» впроваджена на ТОВ «Здорова їжа», 20 % розчину під назвою «ДГК Р» впроваджена на ТОВ «Нутрідем». Розроблені та затверджені технічні умови ТУ У 10.8-36988678-001:2013 на дані розчини.

Вперше в Україні створені технології виробництва ін'єкційних розчинів на основі ДГК. Розроблено та стандартизовано аналітичну (проекти МКЯ) та технологічну документацію на розчини. Технологію виробництва ін'єкційного водного розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл апробовано в умовах промислового виробництва АТ «Біолік», м. Харків, ін'єкційного водного розчину «ДГК-Meg» апробовано в умовах промислового виробництва АТ «Лекхім-Харків».

Окремі фрагменти роботи впроваджено в навчальні програми кафедр ряду вищих навчальних закладів України.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійно завершеною науковою працею. Здобувачем особисто проведено патентно-інформаційний пошук та узагальнення літературних даних за темою дисертаційної роботи.

Здобувачем разом з науковим керівником визначено мету та задачі досліджень, теоретично обгрунтовано склад розчинів ДГК.

Безпосередньо автором здійснено:

- вивчення фізико-хімічних властивостей субстанції ДГК, критичних показників якості;
- розробка складу і технології одержання оральних розчинів ДГК;
- розробка і стандартизація складу та технології одержання ін'єкційних розчинів;
- підготовка проектів МКЯ;

- напрацювання зразків розчинів для аналітичних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень;
- узагальнення отриманих даних;
- науковий аналіз та систематизація отриманих результатів;
- розроблені та зареєстровані технічні умови на оральні розчини;
- апробація технологій усіх розчинів в промислових умовах фармацевтичних підприємств.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Алмакаєвою Л. Г., Староверовим В.М., Доля В.Г, Панфіловою А.Л., Суріковою І. О., Бегуновою Н.В., Снегирьовою Д.В.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належать основний творчий доробок і зазначені у дисертації результати досліджень. Постановка мети і завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником. Співавтори наукових праць не захищали дисертацій, які пов'язані з темою цієї дисертаційної роботи.

Основні положення роботи обговорювалися на: VIII Національному з'їзді фармацевтів (Харків, 2016); «International Trends in Science and Technology»: International scientific conference «World science» (Warsaw, Poland, 2017); XI науково-практична конференція з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (2017); I міжнародна науково-практична інтернет конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2018); конференція з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування дня фармацевтичного працівника України «Сучасна Фармація: Історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 2019); міжнародна науково-практична конференція «Науковий підхід до сфери практичної косметології: актуальні питання й тренди (Харків, 2020); Abstracts of the 4th International scientific and

practical conference «Innovative development of science and education» (Athens, Greece, 2020).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 216 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 156 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 34 таблицями, 24 рисунками. Список використаних джерел містить 261 найменувань, з них 146 кирилицею та 115 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ СТВОРЕННЯ РОЗЧИНІВ ДЛЯ ОРАЛЬНОГО ТА ІН'ЄКЦІЙНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НА ОСНОВІ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ (Огляд літератури)

1.1 Актуальність створення нових вітчизняних препаратів широкого спектру дії для профілактики, лікування та реабілітації ССЗ – основної причини смертності в Україні

Результати досліджень, які проводилися в останній час, говорять про те, що в основі розвитку патологічних процесів у серці, печінці, мозку та інших життєво важливих тканинах організму лежать порушення у функціонуванні мембран клітин (кардіоміоцитів, гепатоцитів, нейронів, ендотеліоцитів та клітин крові, що взаємодіють з ними), які можуть визначати інтенсивність розвитку патологічного процесу у цих органах і, як кінцевий результат, тяжкість їх пошкодження [175, 206, 258]. Патологічні ураження, що призводять до втрати цілісності судин лежать в основі розвитку багатьох захворювань, в т. ч. й тих, що мають важливе медико-соціальне значення [163, 179, 191, 209].

Одними із основних причин смертності населення у різних країнах світу, в т. ч. в Україні вже протягом тривалого часу залишаються серцево-судинні захворювання [64]. Так, в Україні щорічно від інфаркту помирає близько 50 тис., а від інсульту та його наслідків – більше 150 тис. наших громадян, в основному чоловіків та людей працездатного віку [58]. Як свідчать дані спеціальної літератури, більшість ССЗ можна попередити шляхом застосування цілого комплексу заходів, серед яких застосування препаратів профілактичної медицини, насамперед тих, що запобігають ураженню судин займає важливе місце [58, 163, 206]. Нажаль, враховуючи низький рівень платоспроможності населення України, соціально-економічна доступність ЛЗ на фармацевтичному ринку (ФР) залишається низькою. Одним із напрямків вирішення цієї проблеми є розширення асортименту

вітчизняних препаратів природного походження, які мають антиоксидантну, ангіо- та кардіопротекторну дію та не мають побічної дії на організм. До таких препаратів та речовин можна віднести флавоноїди, які на даний час викликають все більшої зацікавленості у науковців та лікарів. Відомими ЛЗ, які застосовуються в медичній практиці для лікування ССЗ, пневмоній, судинних проблем являються препарати флавоноїда кверцетина. На даний час проводяться клінічні випробування препарату при застосуванні в комплексному лікуванні COVID-19 – хвороби, яка змінила життя мільйонам на цій планеті. З метою оцінки перспективності впровадження нових препаратів із групи флавоноїдів (біофлавоноїдів) на вітчизняний ФР виникає об'єктивна необхідність у проведенні систематизації даних сучасної літератури, в яких висвітлюються питання ефективності їх застосування у лікуванні різних патологій, в т. ч. ССЗ ліків, які використовуються у превентивній медицині, комплексному лікуванні та в період реабілітації. Зазначене й обумовило мету наших досліджень.

Кверцетин – це потужний антиоксидант, інгібітор синтезу лейкотрієнів, комплексний блокатор проведення та реалізації сигналу в кальцій-мобілізуючій поліфосфоінозитидній системі та активатор аденілатциклазного каскаду [58, 163, 209]. Зазначені механізми постають як найважливіші та є визначальними у формуванні більшості фармакотерапевтичних ефектів, що проявляє кверцетин та близькі по структурі сполуки. Про високу біологічну активність біофлавоноїдів, насамперед кверцетину та дигідрокверцетину (ДГК), було відомо давно. Але більш широкого застосування у алопатичній медицині вони набули лише у другій половині минулого століття. З тих часів зацікавленість до кверцетину і ДГК не лише не зменшилась, а завдячуючи активному розвитку фармакології та суміжних з нею галузей знань, а також розвитку профілактичної медицини - набув нового логічного навантаження та значення.

За результатами систематизації даних спеціальної літератури можна стверджувати, що порушення цілісності судин, вен та капілярів є одним із

важливих ланцюгів у патогенезі багатьох патологічних процесів в організмі людини та розвитку у подальшому цілого спектру симптокомплексів [240]. Тому використання препаратів, які дозволяють зберегти фізіологічні параметри функціонування судин та капілярів, сприяють поліпшенню мікроциркуляції і, як наслідок, покращують метаболічні процеси, є життєво необхідним. Все це може істотно запобігти розвитку таких загрозливих для здоров'я та життя людини патологій, як інсульт, інфаркт міокарду, хронічна венозна недостатність, цукровий діабет тощо [166]. До складу зазначеної сукупності препаратів відносяться лікарські засоби (ЛЗ), що представлені у різних фармакотерапевтичних групах за АТС-класифікаційною системою, але в основі механізму їх дії покладено ангіопротекторні властивості. Як свідчать дані спеціальної літератури, ангіопротектори з кожним роком набувають все більшого поширення у лікуванні різних видів ангіопатій (діабетичних, у т. ч. ретинопатій, нефропатій, патологічних уражень церебральних і коронарних судин, судин нижніх кінцівок тощо), а також у терапії ревматичних і ревматоїдних захворювань, атеросклеротичних ураженнях судин, захворюваннях вен, а також при трофічних виразках тощо [155, 166]. Використання природних біофлавоноїдів у терапії широкого спектру захворювань не втрачає своєї актуальності й зараз [240, 252]. На даний час у літературі представлені дані щодо антиоксидантної активності [225], вазодилатуючої [239], антигіпертензивної [242] та антиатерогенної дії [190, 225]. Крім цього, препарати кверцетину продемонстрували значимі дані з цитопротективної властивості в умовах синдрому ішемії та реперфузії різних тканин та органів людини. Ефективне використання кверцетину та дигідрокверцетину у якості антиоксидантних препаратів дозволяє стверджувати про наявність цілого комплексу властивостей, насамперед антиангінальної [64], ліпорегулюючої [190], антикоагулянтної [225, 240], мембраностабілізуючої [251] та імуностимулюючу активності [162, 226]. Наявність значимих результатів у здатності блокувати активність вільних радикалів, збільшувати ефективність ферментативного антиоксидантного

захисту клітин, що в цілому створює позитивні передумови до збереження цілісності клітинних мембран, обумовлює необхідність проведення подальших досліджень у зазначеному напрямку [225]. Як відмічають фахівці, найбільш перспективним серед біофлавоноїдів за мембранопротерними властивостями є представник інгібіторів ліпоксигеназ – «Корвітин» (кверцетин) [221, 225]. Враховуючи соціально-економічне значення зростання показників захворюваності населення, особливо працездатного віку на злоякісні патології, значного прикладного значення набувають дослідження з оцінки антиканцерогенної активності використання препаратів кверцетину [213]. Як свідчать останні дані, їх протипухлинна активність доведена у лікуванні різних пухлин, в т. ч. у онкогематології [2, 200]. Враховуючи вищезазначене - логічним виглядає той факт, що ринок препаратів кверцетину та дигідрокверцетину активно розвивається в Україні та за кордоном [164]. Як свідчать результати досліджень вітчизняних вчених, переважна більшість препаратів кверцетину належать до групи безрецептурних ЛЗ, які відпускаються відвідувачам аптеки у рамках реалізації відповідального самолікування в амбулаторних умовах.

Враховуючи ці факти можна стверджувати, що ринок препаратів ангіопротекторної дії, до яких відносяться кверцетин і дигідрокверцетин - має високий потенціал розвитку, а процес розробки та впровадження у практичну медицину препаратів з означеної групи постає як важливе завдання у напрямку ефективної реалізації принципів профілактичної медицини та підвищення рівня якості життя населення.

1.2 Характеристика антиоксидантів природного походження та їх вплив на організм людини

Активізація процесів вільнорадикального окислення в результаті дії екзогенних прооксидантних факторів (радіація, ультрафіолет, забруднювачі повітря, гіпероксія тощо) або активації ендогенних механізмів генерування

радикалів призводить до утворення альдегідів, епоксидів, ліпідних перекисів, які пригнічують синтез ДНК і поділ клітин, до порушення фізико-хімічної структури та властивостей мембран, пригнічення мембранно-пов'язаних і цитоплазматичних ферментів, порушення біоенергетичних процесів, блокування синтезу білків і нуклеїнових кислот тощо [30, 72, 195-198]. Для опису дисбалансу, що виникає в тих чи інших випадках в системі «оксиданти – антиоксиданти» та призводить до посилення деструктивних процесів, в останні роки почали застосовувати термін «окиснювальний стрес» [196]. Він є важливим патогенетичним фактором розвитку багатьох захворювань і патофізіологічних процесів (понад 100), таких, як запалення, атеросклероз і його тромбонекротичні ускладнення, виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки, пародонтоз, гіпертензія, катаракта, онкологічні захворювання, ішемічне і реперфузійне ураження тканин, діабет, бронхолегеневі та нейродегенеративні патології [49, 72, 133, 195-198]. Це робить актуальним пошук засобів профілактики і терапії окисного стресу – природних і синтетичних антиоксидантів.

За хімічною природою антиоксиданти являють собою фенольні сполуки; антиоксидантні ферменти – глутатіонпероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза, церулоплазмін; сульфуровмісні сполуки – глутатіон, пероксиредоксини, тіоредоксини тощо; вітаміни (вітаміни Е, С, А і каротиноїди); естрогени, сечова кислота та мікроелементи – Se, Zn, Cu, Mn, Fe. У залежності від розчинності розрізняють ліпофільні (вітаміни Е, А, К, стерини, убіхінон) і гідрофільні (вітаміни С, В₆, серотонін, SH-вмісні білки) антиоксиданти; за молекулярною масою виділяють групу низькомолекулярних (глутатіон, аскорбат, β-каротин, α-токоферол, сечова кислота) і високомолекулярних антиоксидантів, які не здатні проникати через клітинні мембрани (феритин, каталаза, пероксидази та ін.) [72, 133, 195]. На сьогоднішній день найбільш вдало весь цей великий клас речовин об'єднує визначення, дане Беррі Холлівеллом і Джоном Гаттеріджем: «Антиоксидант - це будь-яка сполука, яка, будучи присутньою в низьких

концентраціях у порівнянні з субстратом, що окислюється, істотно затримує або пригнічує його вільнорадикальне окислення» [72, 198].

До фенольних антиоксидантів відносять будь-які сполуки виду $Ar(OH)_n$, в яких одна або кілька гідроксильних груп з'єднані з ароматичним ядром (Ar), при цьому молекули можуть містити кілька фрагментів $Ar(OH)_n$ [72, 133].

Все розмаїття природних фенольних сполук може бути систематизовано залежно від принципових особливостей будови молекул, їх фізико-хімічних властивостей і характеру антиоксидантної дії (табл. 1.1) [72, 133].

Таблиця 1.1

Класифікація фенольних антиоксидантів

Класифікація фенольних антиоксидантів		Приклади сполук
1	2	3
За механізмом антиокислювальної дії	монофункціональні (антирадикальні)	діалкілсульфіди, алкіламіни, алкілфосфити
	біфункціональні (комбінованої дії)	флавоноїди, тіофан
За відносною розчинністю у воді і ліпідах	гідрофільні (водорозчинні)	вітаміни С, В ₆ ,
	гідрофобні (жиророзчинні)	вітаміни Е, А, К
За походженням	природні	α -токоферол
	напівсинтетичні	токоферол ацетат
	синтетичні	тролокс, тіофан
За кількістю <i>орто</i> -замісників	незаміщені	
	частково заміщені	
	ди-заміщені	

Прдовж. табл. 1.1

1	2	3
За кількістю фрагментів Ar(OH) _n у молекулі	моноядерні	прості феноли
	поліядерні	бісфеноли, трисфеноли
За кількістю приєднаних до ароматичного ядра OH- груп	монофеноли	феноли (пірокатехин, гідрокхинон, фенол)
	поліфеноли	токоферолі, флавоноїди, похідні галової кислоти
Залежно від природи ароматичного фрагмента	власне феноли	іонол, α-токоферол, гідрокхинон
	гідроксипохідні конденсованих аренів	нафтоли
	гідроксипохідні ароматичних гетероциклів	емоксипін

За даними літератури, антиоксидантна активність фенольних сполук може бути обумовлена здатністю взаємодіяти з радикалами ліпідів, активними формами кисню, іонами металів змінної валентності [30, 45, 70, 72, 105, 133]. Поліфенольні сполуки здатні взаємодіяти з гідроксильними (L-O[•])- і пероксильними (L-OO[•])-радикалами ліпідів (алькоксилами) завдяки їх здатності віддавати електрон (або атом водню) [133]. В результаті утворюються радикали фенолів - феноксили, які не беруть участі в поширенні окисного процесу. При цьому існує тісний взаємозв'язок між хімічною структурою та антиоксидантною активністю цих сполук. Останні дослідження показали, що існує кілька структурних елементів, які грають детермінуючу роль в антирадикальній активності флавоноїдів [72, 106, 133].

Залежно від природи ароматичного фрагмента розрізняють власне

феноли (інол, α -токоферол, гідрохінон та ін.), гідроксипохідні конденсованих аренів (нафтоли тощо), а також гетероароматичні сполуки (еmokсипін). За кількістю приєднаних до ароматичного ядра OH-груп розрізняють моно- і поліфеноли. За кількістю фрагментів $Ar(OH)_n$ в молекулі фенольні антиоксиданти поділяють на моно- і поліядерні феноли (бісфенол, трис-феноли тощо). За відносною розчинністю у воді і ліпідах фенольні антиоксиданти можуть бути гідрофільними (водорозчинними) або гідрофобними (жиророзчинними) сполуками. За механізмом антиокислювальної дії розрізняють антирадикальні і біфункціональні антиоксиданти (інгібітори комбінованої дії) [61, 70, 72, 133].

Такими структурними елементами є, по-перше, сполучена π -електронна замкнута система, що включає участь 4-оксогрупи і подвійного зв'язку гетероциклічного кільця; по-друге, *орто*-дигідроксизаміщене кільце В (пірокатехінове угруповання) і, по-третє, поєднання карбонільної групи з гідроксильною групою у сусіднього атома С3 в кільці С. На рис. 1.1 представлена структура кверцетину, на якій виділені ділянки молекули, відповідальні за антирадикальну активність [70, 72, 133].

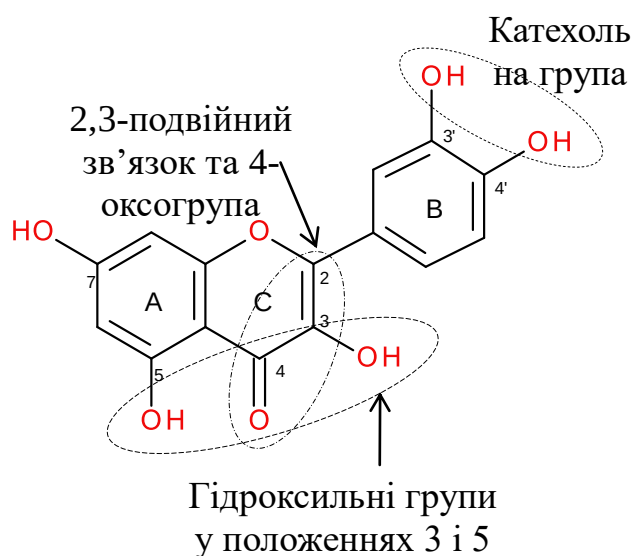


Рис. 1.1 Структура кверцетину

Таким чином, антирадикальна активність флавоноїдів істотно залежить від хімічної будови і стереохімічної структури сполуки [45, 70, 72, 106, 133].

У флавононах і флавононолах через відсутність подвійного зв'язку в кільці С руйнується загальне електронне сполучення в молекулі, і значення антиоксидантної активності у перерахунку на тролокс становить в 1,5-2 рази менше.

Антиоксидантні властивості рослинних фенолів, зокрема флавоноїдів, знайшли масове застосування в харчовій промисловості (стабілізатори жирів і барвники) [37, 101, 107, 134, 146], косметичній (стабілізація компонентів кремів) [37, 146], фармакологічній (надають капіляророзміцнюючу або Р-вітамінну, кардіотропну дію) [37, 43-45, 49, 101, 146].

1.3 Характеристика біофлавоноїдів та їх властивості

Термін «біофлавоноїди» ввів в середині минулого століття (1936-1937 роки) лауреат Нобелівської премії угорський біохімік Альберт Сент-Дьорді, який виділив з лимона і червоного перцю флавоноїд, названий вітаміном Р (від латинського «*paprika*» - «перець» та «*permeabilis*» - «проникність»), що сприяв відновленню нормальної резистентності пошкоджених капілярів при васкулярному типі геморагічної пурпури [64-66, 133, 185, 214]. Проте подальші дослідження показали, що Р-вітамінною активністю володіє ціла група різних за структурою сполук, що відносяться до класу флавоноїдів. Більш того, з'ясувалося, що крім флавоноїдів (кверцетин, рутин, гесперетин тощо) капіляророзміцнюючою дією володіють антоціани, кумарини, фенолокислоти і представники інших груп рослинних фенольних сполук [36, 61, 64, 72, 101]. **Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Біофлавоноїди вважаються незамінними компонентами їжі людини і тварин, оскільки ссавці (в тому числі людина) не здатні синтезувати рослинні поліфеноли [132]. Потреба людини у флавоноїдах регламентується Наказом МОЗ [77], СанПіН [113, 112] і складає 250 (у тому числі катехінів – 100) мг/добу. Велику кількість флавоноїдів містять цитрусові, плоди

шипшини, чорноплідної горобини, глоду, бузини, обліпихи, чорної смородини, суниці, малини, журавлини, вишні, зелених сортів яблук, сливи і винограду, квітки і листя гречки, плоди та пуп'янки софори японської, червоний перець, зелений чай, червоні вина, темні сорти пива, а також чорний шоколад (70% какао і вище) тощо [45, 64, 72, 133, 176, 185, 214, 241].

Основна біологічна активність флавоноїдів обумовлена здатністю гальмувати окислення аскорбінової кислоти (інгібування аскорбіноксидази) і перекисне розщеплення ліпідів, а також інактивувати іони важких металів шляхом утворення з ними хелатних комплексів [72, 133, 183, 201, 214]. Саме ці властивості флавоноїдів визначають їх головні клінічні ефекти - капіляропротекторну і кардіотропну дію (деякі з них виступають в якості гладком'язових спазмолітиків і гіпотензивних засобів), а також їх виражену антиоксидантну активність [43-45, 72, 101, 133, 149, 214, 223, 232]. Біофлавоноїди попереджають офтальмологічні ускладнення цукрового діабету, такі як діабетична ретинопатія, крововилив в склоподібне тіло, тромбоз центральної вени сітківки та ін. [51, 74], покращують функцію печінки, нормалізують рівень холестерину [51, 72, 133, 194, 247, 253, 256]. Ряд флавоноїдів володіє антибактеріальною [133, 165] та протизапальною [44, 72, 133] активністю. В останні роки активно обговорюється противірусна, зокрема антигерпетична [133] і протипухлинна [154, 169, 203, 217, 243, 260] активність біофлавоноїдів, а також їх здатність знижувати летальність від серцево-судинних захворювань (ССЗ) [43, 184, 214]. Широке використання флавоноїдів спостерігається в ангіології, де їх застосовують для профілактики і лікування хронічних захворювань вен [99, 133, 150, 185, 214]. Незаперечна роль біофлавоноїдів в обміні колагену і формуванні повноцінної сполучної тканини [20, 133, 185, 214]. При цьому важливою властивістю біофлавоноїдів є відсутність кумулятивної або токсичної дії, тому навіть у великих дозах вони зазвичай не викликають будь-яких негативних явищ, за винятком тимчасового зниження артеріального тиску [72]. Відзначається позитивний ефект від застосування цих сполук у вигляді

харчових продуктів або дієтичних добавок – спеціальних харчових продуктів (ДД-СХП) при різних серцево-судинних та нейродегенеративних захворюваннях, дисліпідемії, ожирінні, цукровому діабеті [24-25, 72, 107, 133, 146].

1.4 Серцево-судинні захворювання та їх лікування антиоксидантами

Найбільш важливим слід визнати рекомендацію ВООЗ використовувати флавоноїди в якості засобів попередження та зменшення ризику розвитку різних ССЗ, а також перспективу створення на їх основі нових високоефективних лікарських препаратів [72, 195-198, 259]. Це представляє величезний практичний інтерес виходячи з того, що в 2013 р. кількість смертей від захворювань серцево-судинної системи в світі склала 17,3 млн. (7,4 млн. - від коронарної хвороби серця; 6,7 млн. - від інсульту), а у 2030 р. за прогнозом ВООЗ цей показник виросте до 23 млн., що становить майже 31% від загальної кількості смертей у світі, а в Україні - 66% [259]. У патогенезі тромбозу, атеросклерозу, захворювань периферичних артерій, інфаркту міокарда, ішемічного інсульту відбувається порушення деформування еритроцитів, яке безпосередньо пов'язується з розвитком окисного стресу [2, 17, 72, 196, 241]. Цей самий фактор часто супроводжує цукровий діабет, ожиріння, гіперхолестеринемію, стрес, паління [72, 196, 241].

Існує безліч клінічних спостережень, що вказують на прямий або опосередкований зв'язок між споживанням різних флавоноїдів або харчових продуктів, що їх містять, і ризиком виникнення та перебігом ССЗ [2, 55, 72, 132, 133, 148, 152, 212, 214, 241].

Так, за останніми даними, регулярне споживання так званої "середземноморської дієти", багатой оливковою олією, плодами цитрусових і зеленню, зменшує число факторів ризику ССЗ [72]. У рандомізованих дослідженнях було виявлено, що щоденний прийом 15-20 мг фенольних

сполук, виділених з оливкової олії, знижував смертність від ССЗ [72]. Флавоноїди цитрусових здатні викликати вазодилатацію [72, 133, 185]. Виявлено, що у щурів флавоноїди цитрусових збільшували рівень ліпопротеїдів високої щільності і знижували концентрацію тригліцеридів, холестерину ЛПНШ і загальних ліпідів [72, 133]. Кілька епідеміологічних досліджень присвячені вивченню позитивного впливу флавоноїдів (яблук, цибулі та чаю) на розвиток ССЗ [43, 72, 133]. Флавоноїди чаю (флавани-3-ол, епікатехін-3-О-галлат, епігаллокатехін-3-О-галлат) запобігали індукованому перекисом водню пошкодженню бичахих ендотеліоцитів в культурі клітин, а також знижували утворення тромбосану, перешкоджаючи тромбоутворення [43, 202, 233]. Більш того, показано, що флавоноїди здатні пригнічувати утворення адгезивних молекул ендотеліоцитами та селективну індукцію VCAM-1 (судинно-клітинної адгезивної молекули-1) під дією інтерлейкіну-13 [64, 72, 148, 154, 169, 170, 203, 217, 243, 260].

Відомий також «французький парадокс» - низька захворюваність ССЗ при вживанні червоного вина, що містить кверцетин, рутин та ресвератрол [22, 189, 197, 207, 261]. У 1974 р. А. Л. Клатскі з колегами виявили дивну закономірність: вживання алкогольних напоїв знижує ймовірність розвитку інфаркту міокарда [22, 189, 261]. У 1979 р. А. С. Легер з співавторами опублікували результати епідеміологічних досліджень, що демонструють зворотну кореляцію між споживанням вина і смертністю від ССЗ [26, 167, 261]. Подальші спостереження показали, що, незважаючи на споживання великої кількості тваринних жирів (вершкове масло, жирні сири, свиняче сало) і, як наслідок, підвищений рівень холестерину в крові (головний фактор ризику розвитку атеросклерозу), у французів захворюваність і смертність від ССЗ значно нижче, ніж у жителів інших європейських країн і країн Північної Америки [170, 184, 189]. Так, від ішемічної хвороби серця у Франції гине на 36 % чоловіків менше, ніж в США, і на 39 % - ніж у Великобританії [261]. Свідченням на користь потенційної можливості використання флавоноїдів з метою профілактики ССЗ є експерименти, в яких вивчено сприятливий вплив

внутрішньовенного та інтрагастрального введення червоного вина і соку винограду собакам зі стенозованими коронарними артеріями [131].

Багато досліджень, що включали близько 90 тис. учасників і проводились протягом понад 10 років, підтвердили факт зниження ризику смерті від ССЗ при регулярному споживанні флавоноїдів [45, 133]. В даний час можна вважати встановленим, що їх споживання призводить до зниження числа випадків (аж до 20 %) ішемічного інсульту, коронарної хвороби і розвитку атеросклерозу [133]. Виявлено поліпшення стану судинного ендотелію, в основному за рахунок підвищення продукції оксиду азоту, на тлі гіпертензії, інсульту та метаболічного синдрому [18, 19, 51]. Показано, що флавоноїди надають вазопротекторний ефект при оклюзії периферичних судин [132, 133].

1.5 Обґрунтування необхідності розробки препаратів на основі дигідрокверцетину

Останнім часом великий інтерес у наукових колах різних країн світу, в першу чергу в США, Канаді, країнах Європи, в Південній Кореї, Японії, Росії та Україні отримав ДГК, який широко використовують у ДД [1, 4, 6, 8, 18, 19, 21, 24-25, 37, 40, 42, 59, 63, 64, 96, 108, 121, 135, 136, 236].

Це біофлавоноїд природного походження, вперше виділений у 40-50-х роках минулого століття з кори дугласової ялиці, а наприкінці 60-х років - з деревини модрин сибірської, Гмеліна та даурскої [7, 37, 67, 96, 120, 128, 160, 204, 205, 216, 218]. Унікальність цього наукового відкриття полягала в тому, що сполуку отримали не у вигляді витяжки (екстракту), а у індивідуальному стані як кристалічний порошок [37, 90-89, 180, 237]. Тепер стало можливим застосовувати його в капсулах або таблетках, у концентраціях, що в сотні разів перевищують вміст у колишніх екстрактах. Останні дослідження показали, що ДГК також може бути отриманий з (+)-катехіну з використанням бактерій *Burkholderia* sp. KTC-1, виявлених нещодавно в

торфі [157].

У 2008-2009 роках дві незалежні лабораторії Advanced Botanical Consulting & Testing, Inc. і Brunswick Laboratories виконали тестування ДГК, виробленого в Росії [37, 45]. Результати дослідження показали, що він має дуже високу антиоксидантну активність у порівнянні з усіма відомими екзогенними антиоксидантами (лютеоліном, кверцетином, епікатехіном, вітамінами Е, А, В, С, D, К, β -каротином). Антиоксидантна активність ДГК проявляється при його концентраціях 10^{-4} - 10^{-5} , значення ORAC доходить до 60000 умовних одиниць [1, 7, 37, 160].

Численними дослідженнями встановлено, що ДГК має вітамінну, ангіопротекторну, антиоксидантну, дезінтоксикаційну, гепатопротекторну, антитоксичну, радіопротекторну та протинабрякову дії [37, 68, 187, 211, 227, 229, 250]. Він стимулює процеси регенерації слизової оболонки шлунка, перешкоджає перекисному окисленню ліпідів клітинних мембран, захищає стінки судин від ушкодження, зменшує набряклість при запаленні, володіє гіполіпідемічною та діуретичною активністю [4, 5, 7, 9, 17, 27, 29, 27-42, 47, 53, 84, 86, 142, 143, 145, 227, 228, 243, 250]. Його застосовують при діабеті, різних видах раку, променевої хвороби, ССЗ, бронхіальній астмі, інфекційних захворюваннях (ГРВІ, бронхіт та ін.), ерозіях матки, варикозному розширенні вені, гнійних висипах, виразках шлунка, для загального зміцнення і омолодження організму [12, 18, 19, 27, 29, 37, 115, 116, 165, 171, 210, 228].

ДГК має капіляропротекторну дію, зменшує проникність і ламкість капілярів, покращує мікроциркуляцію, сприяє пригніченню дії ферментів гіалуронідази і колагенази, які руйнують сполучну тканину стінок кровоносних судин і інших систем, але активує пролінгідроксилазу, що сприяє «дозріванню» колагену (синергізм дії ДГК щодо аскорбінової кислоти - субстрату пролінгідроксилази), таким чином, підтримуючи міцність, еластичність і нормалізує проникність судинної стінки. ДГК, пригнічуючи вільнорадикальні процеси ПОЛ у біомембранах (обриває ланцюжок взаємодії

гідропероксиду та нітропероксиду з ліпідами і ліпосахаридами), стабілізує клітинні мембрани, сприяє нормалізації проникності капілярів, перешкоджає розвитку дистрофічних і склеротичних змін у тканинах [6, 9, 18, 19, 27, 29, 37-40, 58, 108, 117, 172, 250]. На водно-ліпідній поверхні мембрани клітини структура, кількість і розташування гідроксильних груп молекули ДГК з переважанням гідрофільних груп визначають формування водневих зв'язків з полярними зовнішніми групами ліпідних молекул мембрани, тим самим захищаючи мембрану від зовнішніх пошкоджень [67, 141, 151, 161, 220].

Мембраностабілізуючий ефект ДГК і його окислювально-відновні властивості сприяють ефективному функціонуванню ферментів тканинного дихання, утилізації кисню і синтезу АТФ в мітохондріях [1, 7, 37, 95, 104, 250].

У своїй нативній формі ДГК сприяє зниженню ймовірності розвитку гіпертонічного кризу у схильних до гіпертензії людей, а також зменшує ризик появи тахікардії та аритмії серцевого м'яза [133, 138, 173, 210]. ДГК блокує утворення комплексів ацетальдегіду, тим самим знижуючи токсичну дію спирту на тканини і органи людини, попереджає спазм судин, викликаний споживанням алкоголю, внаслідок чого артеріальний тиск не піддається значним коливанням [30, 57]. ДГК блокує зняття заряду з еритроцитів, тим самим попереджаючи їх злипання і утворення тромбів [147]. ДГК надає статин-фібрatний ефект, сприяє посиленню інсулінової сигналізації всередині клітини, що передбачає перспективність використання сполуки для попередження дисліпідемії та зниження ризику ССЗ, а також їх ускладнень у осіб з метаболічним синдромом [37, 73, 227, 249, 250].

ДГК сприяє поліпшенню мікроциркуляції, реологічних властивостей крові, центральної та периферичної гемодинаміки, функції зовнішнього дихання, оксигенації крові, підтримує спазмолітичний ефект, в тому числі щодо судин серця і головного мозку, позитивно впливає на обмінні процеси в міокарді, підтримує антиаритмічну дію, сприяє запобіганню агрегації тромбоцитів та їх адгезії до епітелію судинної стінки [7, 8, 29, 37-39, 48, 58,

98, 102, 103, 158, 174, 177, 222, 250].

Зараз ДГК проходить дослідження з метою включення в перелік лікарських засобів, ДД-СХП, продуктів для поліпшення загального стану і зовнішнього вигляду людини (wellness-індустрія) [37]. Комісія Ради Європи прийняла рішення про застосування в харчовій промисловості ДГК (таксифоліну) в якості нового харчового інгредієнта в країнах ЄС [215].

Саме тому на сьогоднішній день на світовому ринку спостерігається значний попит на субстанцію ДГК та її препарати, при чому сучасні американські, канадські, французькі, російські компанії-виробники не можуть задовольнити мінімальні потреби ринку [37, 229, 257]. Одною з основних причин цього є недостатня сировинна база деревини модрини та екологічні питання вирубки лісів. Лише в Росії присутня достатня сировинна база та існує можливість комплексної переробки деревини модрини [37]. За існуючими оцінками (наприклад «Росбіопром») потреба в ДГК на російському ринку збільшилася до 18 тонн на рік [30]. Існуючі виробництва покривають цю потребу лише на 65%. У США ДГК випускає компанія «LifeExtension» під назвою «Fast-C® with Dihydroquercetin», в Європі - німецька компанія «LebLang» під назвою «Flarix» і компанія «Smart» під назвою «Taxifolin», в Росії компанія «ДИОД» під відомою торговою маркою «Капілар» [18, 37]. Використання ДГК високого ступеня очищення (98% при повній відсутності сторонніх домішок - смоли, ефірної олії) виробництва ТОВ «Таксифолія» [125] дозволено в країнах Євросоюзу, у Німеччині отримано міжнародний сертифікат №901 від 24.11.09.

Як відомо, шлях введення лікарського засобу (ЛЗ), лікарська форма (ЛФ), фізико-хімічний стан АФІ, допоміжні речовини, технологія виготовлення визначають ефективність і безпеку лікарських засобів та є основою для фармацевтичної розробки. Створення нових лікарських засобів на основі ДГК можливе за рахунок синтезу нових речовин, виділення їх з природних джерел або зміни способу доставки в організм хворого діючої речовини з метою поліпшення її біофармацевтичних властивостей [21, 46, 50,

85, 87, 95, 97, 109, 234, 235, 244]. Сучасні технології дозволяють створювати лікарські форми із заданою швидкістю вивільнення АФІ, із різною швидкістю всмоктування. Наслідком цього є поява ліків з різною біологічною доступністю [37, 137].

1.5.1 Обґрунтування необхідності розробки оральних розчинів дигідрокверцетину

ЛФ, розчинні або ті, що диспергуються, в порожнині рота, привертають дедалі більшу увагу в зв'язку з тим, що деякі групи хворих відчують труднощі при ковтанні. Діючі речовини цих ЛФ, всмоктуючись безпосередньо слизовою порожнини рота, потрапляють до кровотоку або проковтуються з подальшим всмоктуванням слизовою шлунково-кишкового тракту [13]. При такому введенні діючих речовин терапевтичний ефект настає швидше, ніж при пероральному прийомі [37].

Всмоктування глікозидів флавоноїдів відбувається в тонкому кишечнику. При пероральному введенні флавоноїди характеризуються різним ступенем всмоктування (від 0 до 60 %). Період напіввиведення для флавоноїдів становить від 2 до 28 год [119]. Встановлено, що в разі ДГК саме глікозидна форма характеризується найбільшим ступенем всмоктування в тонкому кишечнику. Всмоктування ДГК може відбуватися двома різними шляхами. З одного боку, можливе його деглікозування і подальше всмоктування шляхом дифузії [45]. З іншого боку, є дані про зв'язування глікозиду кверцетину з носієм глюкози, що полегшує його потрапляння через мембрану епітеліоцитів кишечника [37]. Після всмоктування в тонкому кишечнику ДГК через порталну систему транспортується в печінку, де відбувається перша фаза метаболізму [139]. Під час другої фази метаболізму ДГК піддається глюкуронідній і сульфатній кон'югації з утворенням глюкуронідів і ефірів сульфатної кислоти, а в ряді випадків і О-метилування [50, 87, 109, 234, 235].

Всмоктування ДГК багато в чому залежить і від типу супроводжуючої дієти. Всмоктування ДГК істотно підвищується при дієті, що містить 17 % жирів, у порівнянні з дієтою, що містить тільки 3 % жирів [37, 168].

Тому, безперечним є факт необхідності розширення номенклатури оральних лікарських форм, які містять ДГК. Рідка форма ДГК практично на 100 % засвоюється через капілярну мережу порожнини рота, миттєво потрапляє в кровообіг і починає «працювати» [14]. Тоді як тверді форми (таблетки, капсули), які проходять через шлунково-кишковий тракт (ШКТ), схильні до руйнівної дії великої кількості ферментів та кислот, і втрати оригінальної речовини (засвоєння твердих форм становить 30-40 %) [37].

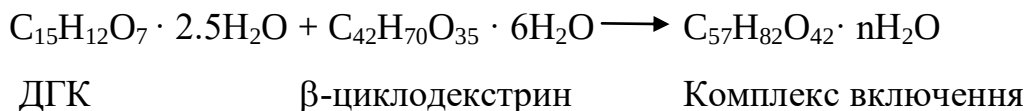
1.5.2 Обґрунтування необхідності розробки ін'єкційних лікарських засобів на основі дигідрокверцетину

Маючи унікальні біологічні властивості, ДГК має один недолік - це погана розчинність в воді при нормальній температурі, що є перешкодою при приготуванні ін'єкційної форми [30, 50, 87, 109, 234, 235].

Період напіврозпаду ДГК при внутрішньовенному введенні становить 2,4 і 0,7 ч. Об'єм розподілу в стаціонарному стані при внутрішньовенному введенні становить 92 і 6,2 л [10, 120], біодоступність при пероральному введенні досягає 50% [108].

Для подолання даної проблеми був розроблений спосіб отримання аддуктів ДГК [10, 37, 156] - синтезуються водорозчинні похідні, в тому числі водорозчинні комплекси включення ДГК у циклодекстрин (2-гідроксипропіл- β -циклодекстрин). Циклодекстрини збільшують біодоступність нерозчинних лікарських засобів шляхом збільшення їх водорозчинності і проникаючої здатності [10, 156]. Вони мають властивість захоплювати в гідрофобну порожнину своєї молекули гідрофобні сполуки, при цьому поверхня комплексу гість-господар, що утворився, залишається гідрофільною. Процес отримання комплексу ДГК з β -циклодекстрином протікає за наступною

схемою:



Отримана сполука - β-циклодекстрандигідрокверцетин (ДГК-ЦД) має загальну формулу $\text{C}_{57}\text{H}_{82}\text{O}_{42} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (рис. 1.5) [156].

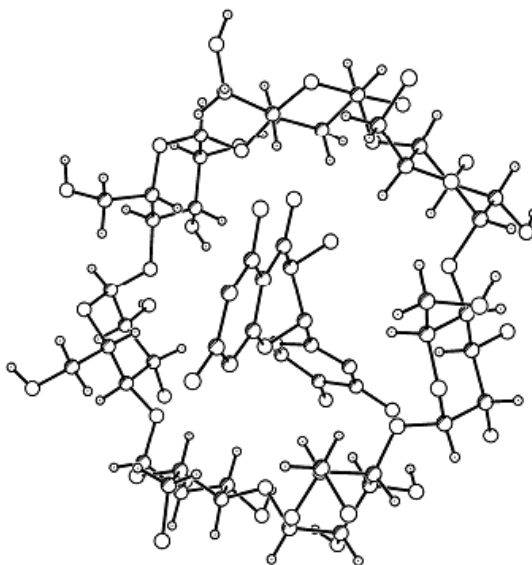


Рис. 1.2 Молекулярна структура ДГК-ЦД

Розчинність в воді ДГК-ЦД становить 53,2 г/л, в той самий час для нативного ДГК водорозчинність становить 0,3 г/л, а для вільного циклодекстрину 18,5 г/л [10, 37, 156].

На моделі клітинних мембран була вивчена швидкість дифузії (проникнення) ДГК-ЦД та ДГК через бішар стандартних двухшарових ліпосом з яєчного лецитину [10, 123, 156]. Встановлено, що «невключений» (індивідуальний) ДГК сильно зв'язується з мембранами і всередину клітин практично не надходить. У той самий час «включений» ДГК (ДГК-ЦД) протягом декількох годин дозовано надходить у клітини, тобто є препаратом пролонгованої дії.

При введенні чистого незв'язаного ДГК у шлунок щурів він накопичується в їх печінці, при великій концентрації може викликати алергію та інші види токсикації [47]. У той самий час ДГК в комплексі з β-

циклодекстрином в печінці не накопичується і не викликає такої побічної дії [10, 37].

Крім можливості внутрішньовенного введення, інкапсулювання ДГК у циклодекстрин полегшує і всмоктування ДГК зі шлунково-кишкового тракту при пероральному введенні [13].

Таким чином, створення нових ін'єкційних ЛЗ на основі розчинних субстанцій, до складу яких входить ДГК, є своєчасним і актуальним.

1.6. Сучасний стан технології одержання оральних та ін'єкційних розчинів дигідрокверцетину

За допомогою модифікації лікарської форми та лікарської речовини можна суттєво підвищити біодоступність препарату. У свою чергу це дає можливість збільшити терапевтичне вікно, уникнути або зменшити токсичний вплив ЛР на організм пацієнта, зменшити кратність прийому, а також уникнути взаємодії лікарських речовин як фармацевтичної, так і фармакологічної.

Основні переваги парентеральних препаратів:

- швидка дія та біодоступність діючої речовини,
- точність дозування,
- зміна швидкості та тривалості вивільнення,
- захист лікарської речовини від негативного впливу рН, ферментів ШКТ та печінки, їжі, інших лікарських засобів,
- сприяння проникненню через епітеліальні бар'єри,
- полегшення процесу перорального прийому для подолання проблем, пов'язаних з ковтанням та ін. станами та властивостями ЛЗ;
- можливість створення великих партій стерильних препаратів.

Відповідні вимоги до даних лікарських засобів регламентуються статтями ДФУ 2.0.

Виробництво стерильних та асептично приготованих лікарських

засобів нормують настанови «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» (СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016).

ДФУ 2.0 містить загальну статтю «Лікарські засоби для парентерального застосування» («Parenteralia»), згідно якої регламентуються наступні положення:

1. Для виготовлення лікарських засобів для парентерального застосування використовують такі допоміжні речовини, які не мають негативно впливати на основну терапевтичну дію лікарського засобу або у використовуваних концентраціях не мають чинити токсичну дію або надмірне місцеве подразнення.

2. При розробці лікарських засобів для парентерального застосування, до складу яких входять антимікробні консерванти, уповноваженому органу мають бути надані дані, що підтверджують ефективність вибраних консервантів (стаття «Ефективність мікробних консервантів»).

3. Лікарські засоби для парентерального застосування виготовляються з використанням матеріалів і методів, що забезпечують стерильність і запобігають забрудненню лікарських засобів і росту в них мікроорганізмів (стаття «Методи виробництва стерильних лікарських засобів»).

4. Вода, використовувана у виробництві лікарських засобів для парентерального застосування, має відповідати вимогам до води для ін'єкцій «in bulk» (монографія «Вода для ін'єкцій»).

При створенні лікарської форми для парентерального застосування у вигляді розчинів необхідно провести комплекс досліджень, що включає одержання розчину діючої речовини встановленої концентрації та дослідження його властивостей, підбір системи допоміжних речовин для підтримки його стабільності, вибір режимів фільтрації і стерилізації, вивчення взаємодії розчину з матеріалом первинного пакування в процесі зберігання, встановлення причин можливої нестабільності лікарської форми та способів їх усунення й ін. [69,100].

Стабільність парентеральних форм залежить від ряду факторів. Одним з найпоширеніших процесів нестабільності, що протікають у водних розчинах лікарських речовин, є гідроліз та окиснення [100].

Надзвичайно важливим моментом в отриманні стабільних розчинів є забезпечення оптимального рН середовища. Для підтримки значення рН на оптимальному рівні, з погляду на стабільність розчину, до складу ЛЗ вводять буферні агенти, наприклад: лимонну, винну, молочну кислоти та їх солі, натрію фосфати, кислоту хлористоводневу, натрію гідроксид або інші лужні агенти та ін. [83].

Досить ефективним є переведення важкорозчинної речовини в розчинний комплекс за допомогою комплексоутворювачів. Також поширена технологія забезпечення стабільності розчинів за допомогою введення в їх склад стабілізуючих добавок, що перешкоджають окисненню, гідролізу, випаданню в осад і іншим процесам, що порушують стійкість розчину [76,83].

Як солюбілізатори застосовують поверхнево-активні речовини різної хімічної природи. Іноді для поліпшення розчинності слабкорозчинних субстанцій і підвищення стабільності розчину розробляються спеціальні склади розчинників, неводних і змішаних у відповідно допустимих кількостях.

Технологічний прийом отримання розчинів на основі нерозчинних або малорозчинних субстанцій шляхом переведення їх у солі або в комплексні сполуки в процесі приготування розчину відомий і застосовується у фармацевтичній практиці, але конкретні дані з технології виробництва відсутні зовсім. В кожному конкретному випадку потрібно проводити комплексні дослідження починаючи з вивчення фізико-хімічних властивостей діючих та допоміжних речовин.

Хімічна стабільність парентеральних та оральних рідких ЛЗ досягається введенням допоміжних речовин у розчин, для запобігання гідролітичному розкладанню компонентів розчину, окисненню та ін.

Допоміжні речовини можуть виконувати функції антиоксидантів, комплексоутворювачів, солюбілізаторів [76,80].

Наступний спосіб забезпечення стабільності – запобігання деструктивному впливу кисню та інших складових повітря на компоненти парентеральних розчинів. Досягається використанням інертних газів у процесі приготування розчину для періодичного або безперервного барботажу у процесі наповнення і запаювання ампул для заміни повітряної фази [69,100].

Найбільш широке застосування як антиоксиданти в парентеральних та оральних рідких препаратах використовують солі кислоти сірчистої та ацетилцистеїн у зв'язку з високою їх здатністю окислюватися, особливо в присутності каталізаторів, і поглинати кисень. Для запобігання даних механізмів окисних процесів використовуються такі антиоксиданти, як натрію сульфід, натрію метабісульфід, ацетилцистеїн, натрію тіосульфат [100].

Важливим аспектом фармацевтичної розробки є забезпечення стабільності парентеральних і оральних рідких розчинів протягом терміну зберігання, яка значною мірою залежить від якості первинного пакування. Найдовершеніші методи стабілізації будуть неефективними, якщо не враховувати хімічний склад і властивості матеріалів упаковки, з якими компоненти розчинів знаходяться в безпосередньому контакті від моменту їх приготування до використання хворими.

Вимоги до пакування описані у відповідних розділах Державної Фармакопеї України (ДФУ), а також у міжнародних Фармакопеях і стандартах ISO. Традиційною упаковкою для ін'єкційних розчинів є скляні ампули. Але скло є не ідентиферентним до складу ЛЗ. У результаті контакту первинного пакування з лікарською композицією може спостерігатися міграція компонентів складу скла в розчини. Тому необхідно проводити дослідження по сумісності матеріалу пакування з ЛЗ.

Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано та узагальнено дані інформаційних джерел щодо природних антиоксидантів та їх впливу на організм. Представлена характеристика біофлавоноїдів.

2. Опрацьовано досвід з лікування серцево-судинних захворювань препаратами із групи флавоноїдів. На сьогоднішній день на світовому ринку спостерігається значний попит на субстанцію ДГК та її препарати.

3. Перспективною є розробка лікарських форм з природним біофлавоноїдом ДГК у вигляді парентеральних та рідких оральних розчинів з метою збільшення біодоступності.

4. Для одержання стабільних ЛФ необхідно провести комплекс досліджень з фармацевтичної розробки, які базуються на сучасних методах починаючи від вивчення фізико-хімічних показників діючих і допоміжних речовин до вивчення взаємодії первинного пакування з композицією та терміну придатності.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Вибір загальної методології досліджень

Лікарські засоби для парентерального застосування представляють собою стерильні лікарські форми, призначені для введення в організм людини шляхом ін'єкцій, інфузій або імплантацій [33].

Серед всіх парентеральних препаратів особливе значення надається ін'єкційним та інфузійним лікарським засобам, за допомогою яких можна дуже швидко надати медичну допомогу ургентним хворим; хворим, що вимагають екстреного ефекту від лікарського препарату, а також оперованим пацієнтам.

Препарати парентерального застосування повинні відповідати основним вимогам: бути ефективними, нетоксичними, стерильними й апірогенними. І якщо останні вимоги досягаються культурою виробництва лікарських препаратів, відповідно до правил GMP, то терапевтична ефективність залежить від якості розробки складу, технології даного препарату та його стандартизації.

Ефективність парентеральних лікарських засобів залежить також від впливу цілого комплексу взаємопов'язаних факторів, найважливішими з яких є здатність активних інгредієнтів оптимально виконувати свої функції, а також характеристики допоміжних речовин лікарської форми, які забезпечують таку спроможність. Саме тому, при створенні нових лікарських засобів парентерального застосування першочерговими завданнями є вибір допоміжних речовин та первинного пакування для стабільного існування препарату та його фармакологічної дії [76].

Поширеним додатковим елементом найменування лікарської форми є ознака готовності до застосування. Цей елемент використовується у випадках, коли лікарська форма, в якій випускається лікарський препарат (початкова

форма), відрізняється від лікарської форми, в якій він безпосередньо застосовується (форма застосування). Тобто лікарська форма вимагає проведення пацієнтом або медичним персоналом додаткового перетворення (наприклад, розчинення, розведення) з метою отримання кінцевої лікарської форми, придатної для безпосереднього введення пацієнтові (рис. 2.1)

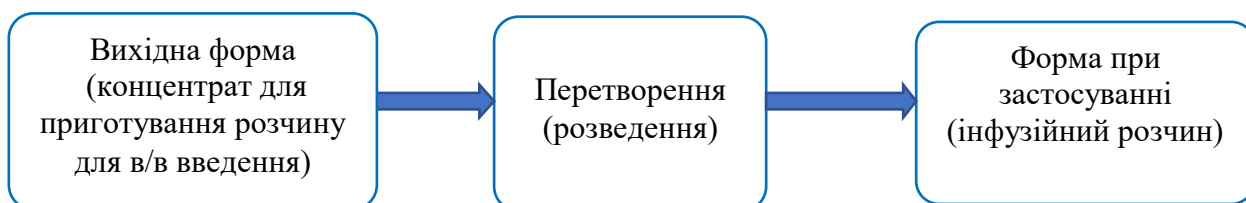


Рис.2.1. Взаємозв'язок між вихідною формою і формою для застосування.

Тому важливе значення приділяється концентратам для ін'єкційних або внутрішньовенних інфузійних лікарських засобів. Вони представляють собою стерильні розчини, призначені для ін'єкцій або інфузій після розведення. Концентрати розводять до зазначеного об'єму підходящою рідиною перед застосуванням. Після розведення одержаний розчин має відповідати вимогам, які ставляться до ін'єкційних або інфузійних лікарських засобів [33].

На етапі фармацевтичної розробки додатково необхідно проводити дослідження з вибору підходячого розчинника для застосування препарату. Його вибирають із готових препаратів, що випускаються фармацевтичними підприємствами або розробляють спеціальний розчинник, який сумісний саме для цього препарату.

Експериментальні роботи з розробки складу лікарської форми доцільно починати з вибору оптимальної концентрації діючої речовини. Для розробки оригінального препарату нами була обрана субстанція природного високоочищеного біофлавоноїду дигідрокверцетину (ДГК). В результаті попередніх пошукових фармакологічних досліджень, які проведені в ДП «ДНЦЛЗ» під керівництвом Чайки Л.О. була рекомендована разова доза

препарату в кількості 50 мг ДГК [129].

При пошукових дослідженнях з розробки складу препарату було обрано в якості первинного пакування ампули по 5 мл. Застосування препарату рекомендовано у вигляді внутрішньовенної інфузії, крапельно. Тому готовий препарат буде підлягати класифікації «концентрат» та мати наступну назву: «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл, по 5 мл в ампулах» або під торговою назвою «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл. Загальна методологія досліджень ґрунтувалася на положеннях настанов з фармацевтичної розробки та на вимогах ДФУ [33, 69, 83]. При плануванні експериментів було враховано структуру загального технічного документа (CTD), згідно якого проходить процедура реєстрації препаратів, а також положення настанов із стандартизації та належної виробничої практики лікарських засобів [69, 82, 130, 245].

Фармацевтичну розробку проводили згідно з Настанови СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8)» [69]. При цьому нами був розроблений алгоритм з розробки складу препарату із ДГК (етап 1), який представлено на рис.2.2.

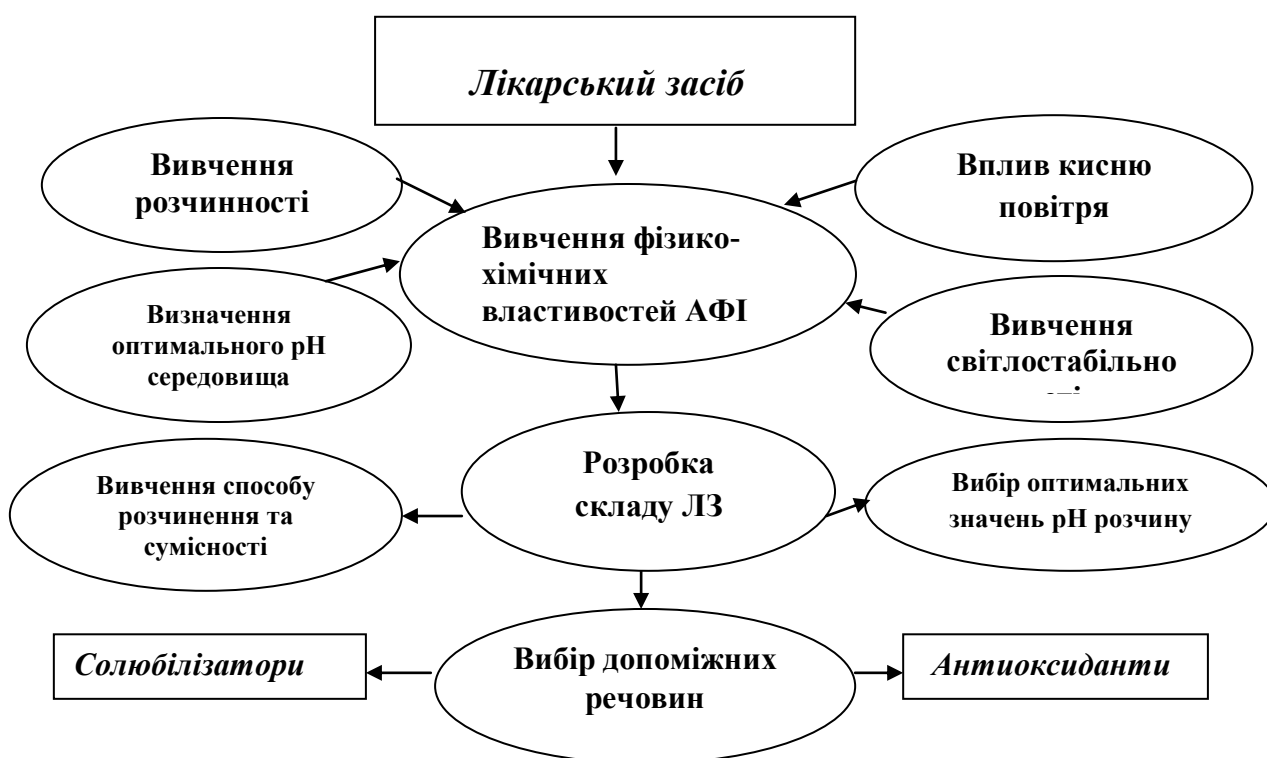


Рис.2.2. Алгоритм розробки складу ЛЗ на основі ДГК.

Важливим етапом має бути обґрунтування введення допоміжних інгредієнтів, необхідних для стабілізації отриманих розчинів лікарських засобів. Такий підхід дозволяє простежити взаємодію всіх компонентів, а також їх вплив на фармакотерапевтичні характеристики лікарського засобу [81, 111].

При розробці технологічного процесу виробництва препарату керувались рекомендаціями згідно Настанови 42-3.4:2004 «Лікарські засоби. Виробництво готових лікарських засобів» та Настанови 42-3.5:2016 «Лікарські засоби. Валідація процесів» [78, 80].

Розробка технології приготування ЛЗ на основі ДГК включала наступні дослідження (етап 2), що представлені на рис 2.3.

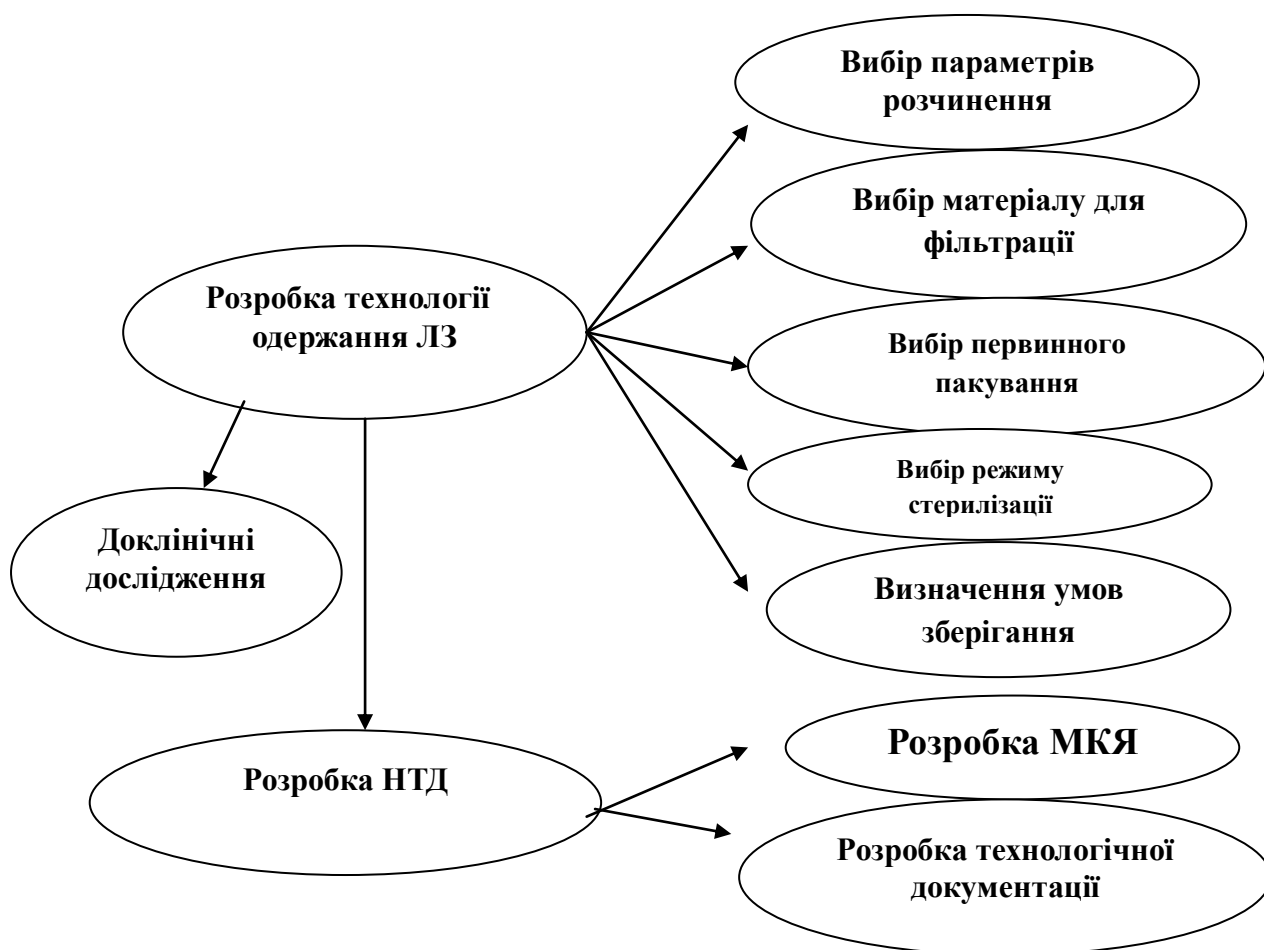


Рис.2.3. Алгоритм розробки технології ін'єкційного ЛЗ на основі ДГК.

Технологія виробництва повинна бути стандартизована, з чітким визначенням критичних точок виробництва ЛЗ. Важливе значення необхідно приділяти вибору первинного пакування, що безпосередньо контактує з лікарською композицією. При обґрунтуванні вибору первинного пакування слід було визначити не тільки стабільність препаратів при зберіганні за вимогами Настанови 42-3.3:2004 «Лікарські засоби. Випробування стабільності», але й дослідити сумісність з матеріалом первинного пакування (скло, поліпропілен) [79].

Наступним етапом (етап 3) було аналітичне забезпечення фармацевтичної розробки:

- вивчення стабільності отриманих розчинів;
- методи визначення кількісного вмісту діючої та допоміжних речовин, розробка аналітичної нормативної документації (МКЯ);
- мікробіологічні та біологічні методи дослідження зразків ЛЗ.

Слід також було провести валідацію методик кількісного визначення діючої та допоміжних речовин за вимогами ДФУ [33]. Діапазони застосування методик мали відповідати їх призначенню.

Важливим етапом наших досліджень (етап 4) були дослідження сумісності ЛЗ з підходящим розчинником для проведення розведення концентрату перед застосуванням.

Узагальнення матеріалів доклінічного вивчення концентрату ДГК було 5 етапом наших досліджень.

Важливим етапом досліджень була розробка складу та технології дієтичних добавок на основі ДГК в формі крапель для сублінгвального прийому антиоксидантної, капіляро- і кардіопротекторної дії для профілактики і застосування в комплексному лікуванні захворювань серцево-судинної і нервової систем. Створення рідких форм ДГК є складним процесом у зв'язку з його низькою розчинністю та нестабільністю в водних розчинах.

Для досягнення поставленої мети був проведений теоретично-експериментальний пошук розчинників для одержання крапель для сублінгвального прийому. Для контролю показників якості крапель для сублінгвального прийому, використовували фармакопейні методи: фізичні та фізико-хімічні (спектрофотометричний, ВЕРХ, потенціометричний).

2.2. Об'єкти дослідження

У цьому розділі представлені об'єкти і методи дослідження, які в своїй сукупності найповніше характеризують проведену роботу.

2.2.1. Фізико-хімічні властивості діючої речовини

Флавоноїди є групою поліфенольних речовин, структурною ознакою яких є вуглецевий скелет С6-С3-С6, що включає конденсовану систему двох кілець, - бензолового (А) і гетероциклічного (С) - і фенільний заступник (В) [69]. Найпростішим представником флавоноїдів є флаван (рис. 2.4).

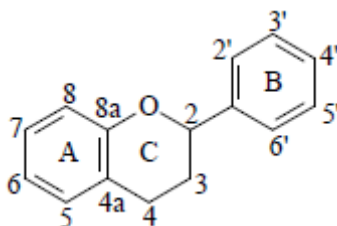


Рисунок 2.4. Структура флавана.

Флавоноїди відрізняються великою структурною різноманітністю. Різноманітність флавоноїдів обумовлюється не лише різною будовою піранового циклу, але і введенням гідроксильних, алкоксильних, алкільних, глікозидних і інших замісників. Для флаван-3-олов, дигідрофлавонів, дигідрофлавонолів і флаван-3,4-диолів характерна ще і стереоізомерія, оскільки існує можливість розташування гідроксильної групи при С- 3 і фенільної групи при С- 2 як в *cis* -, так і в *trans* - положенні відносно

площини пірана. [60]. Дигідрокверцетин представляє собою 3,5,7,3',4'-пентагідроксифлаванон. Його структурна формула представлена на рис.2.5.

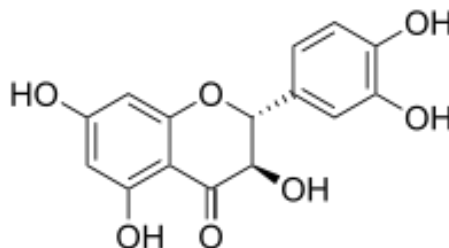


Рис.2.5. Структурна формула дигідрокверцетину (ДГК)

Субстанція ДГК не описана в ДФУ і в інших закордонних фармакопеях. В ході вивчення літературних джерел та експериментальних досліджень було встановлено, що ступінь очистки субстанції ДГК має дуже важливу роль в його застосуванні. Чистота ДГК впливає на антиоксидантну активність, а також на вміст сторонніх домішок.

Для субстанції виробництва фірми «TAXIFOLIA», яка використовувалась для розробки оригінального препарату проведено стандартизацію показників якості та розроблено проект МКЯ. Основні показники якості субстанції ДГК представлені в таблиці 2.1.

Критичними характеристиками ДГК, що можуть вплинути на якість лікарського засобу і які необхідно враховувати при розробці препарату відповідно вимогам, що пред'являються до розчинів для ін'єкцій та оральних розчинів, є: кількісний вміст речовини в субстанції, розчинність, сторонні домішки, вологість, мікробіологічна чистота.

Аналіз показників якості субстанції ДГК призводить до висновку, що отримання лікарських форм у вигляді розчинів на основі ДГК є складним в силу її низької розчинності у воді, яка обумовлена властивостями, належним флавоноїдам, і яка недостатня для досягнення терапевтичної концентрації в розчині навіть у субстанції з підвищеною розчинністю. У літературі описано використання різних технологічних прийомів для підвищення розчинності ДГК.

Таблиця 2.1

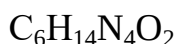
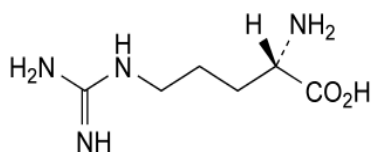
Показники якості субстанції ДГК

Назва показників	Нормування
INN	Taxifolin
Брутто-формула:	$C_{15}H_{12}O_7$
Молекулярна маса	304,25
Кількісний вміст.	Від 97% до 102% (у перерахунку на суху речовину)
Опис:	Світло сірий, з жовтуватим відтінком порошок
Розчинність:	Дуже мало розчинний у воді, легко розчинний у спирті 96%, розчинний в етилацетаті.
Ідентифікація.	ІК-спектр субстанції повинен відповідати ІК-спектру стандартного зразка дигідрокверцетину УФ-ВИД спектр поглинання розчину препарату в області від 225 нм до 400 нм повинен мати максимуми поглинання при 291 ± 2 нм і мінімум при 251 ± 2 нм
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5%
Прозорість розчину.	5,0% розчин препарату в етанолі повинен бути прозорим
Питоме оптичне обертання	Від $+ 18,20^\circ$ до $+ 18,40^\circ$ в перерахунку на суху речовину.
Сульфатна зола	Не більше 0,1%
Важкі метали:	Не більше 0,001%
Сторонні домішки	Кожної окремої домішки не більше 4,0 %; сума домішок - не більше 5,0%.
Залишкові органічні розчинники: - етанол	Не більше 2,0%
Мікробіологічна чистота:	Загальне число аеробних бактерій (ТАМС) не більше 10^3 КОЕ/г ; загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^2 КОЕ/г.

Наприклад, отримання комплексів ДГК з α - і β -циклодекстринами, які характеризується молярним співвідношенням зазначених компонентів 1: 1. Проводять взаємодію природного ДГК, наприклад, з β -циклодекстрином у водному середовищі при кип'ятінні, фільтрують отриманий продукт, кристалізують за допомогою поступового охолодження в присутності водопоглинаючих речовин і витримують до повної кристалізації, декантірують маточний розчин, утворені кристали промивають водою, фільтрують і сушать під вакуумом. Ці супрамолекулярні представники мають пролонговану дію в організмі і стійкі при транспортуванні в кров'яному руслі [94]. У патенті РФ описаний спосіб отримання водорозчинної фармацевтичної композиції ДГК з L-аргініном в атмосфері інертного газу при механічному змішуванні, що також підвищує розчинність [93]. Однак, ці способи, як правило, є енергозатратними і трудомісткими, до того ж вони не завершуються отриманням розчину ДГК, стабільного при виробництві та зберіганні у вигляді парентеральної ЛФ. Тому нашим завданням стало проведення НДР з метою підвищення розчинності ДГК за рахунок підбору допоміжних речовин спрямованих на підвищення розчинності та стабільності розчинів ДГК.

2.2.2. Фізико-хімічні властивості допоміжних речовин, використаних при розробці складу і технології ДД та ЛЗ на основі ДГК

L-аргінін, (1-аміно-4-гуанідиновалеріанова кислота) (ДФУ 2.2, 2014, с. 56 або ЄФ, 2013, с. 1585).

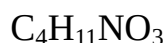
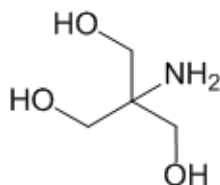


М.м. 174,2

L-аргінін - представляє собою білий кристалічний порошок або безбарвні кристали. Легко розчинний у воді, дуже мало розчинний у спирті,

не розчинний в ефірі. Масова частка L-аргініну не менше 98,5 % і не більше 101,0 % (S)-2-аміно-5-гуанідинопентанової кислоти, у перерахунку на суху речовину.

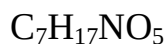
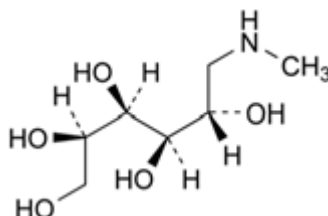
Трометамол, (2-аміно- 2 - (гидроксиметил) -1,3-пропандиол) (ДФУ 2.2, 2014, с.638)



М.м. 121,1

Трометамол представляє собою білий кристалічний порошок або безбарвні кристали з невеликим характерним запахом. Він легко розчинний у воді, його 5% розчин у воді, вільний від CO_2 , прозорий і безбарвний, має рН від 10,0 до 11,5

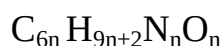
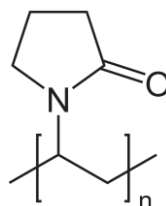
Меглумін (1-дезоксиглюцитол-1-метиламін) - D- глюцитол



М.м. 195,2

Меглумін є білим або майже білим кристалічним порошком. Він легко розчинний у воді, погано розчинний в 96% етанолі, практично не розчинний в метиленхлориді. Його 20 % розчин у воді, прозорий і безбарвний. 1 % розчин має рН близько 11.

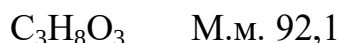
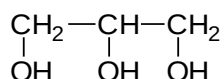
Повідон (ДФУ 2.2, 2014, с. 543)



Порошок або пластівці білого або жовто-білого кольору. Гігроскопічний. Легко розчинний у воді *P*, в етанолі (96%) *P*, дуже мало розчинний в ацетоні *P*.

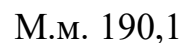
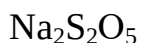
Кількісний вміст: не менше 11,5% і не більше 12,8% азоту (N; А.м. 14,01), у перерахунку на безводну речовину. Різні типи повідону характеризуються їх в'язкістю у розчині, вираженою як величина К.

Гліцерин (ДФУ 2.2, 2014, с. 162)



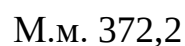
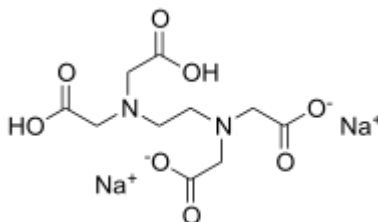
Сиропоподібна, масляниста на дотик, безбарвна або майже безбарвна, прозора рідина. Дуже гігроскопічна. Змішується з водою і 96% спиртом етиловим, мало розчинна в ацетоні, практично не розчинна в ефірі, жирних і ефірних оліях. Показник заломлення від 1,470 до 1,475. Вміст – не менш 98,0% і не більш 101,0%.

Натрію метабісульфіт (ДФУ 2.2, 2014, с. 482 або ЄФ, 2013, с. 3254).

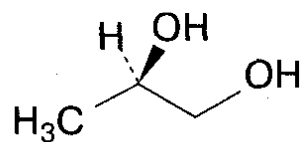


Натрію метабісульфіт (натрію дисульфит) – кристалічний порошок білого або майже білого кольору, або безбарвні кристали. Містить не менше 95,0 % і не більше 100,5 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. Легко розчинний у воді, мало розчинний в етанолі.

Динатрію едетат (ДФУ 2.2, 2014, с. 200)

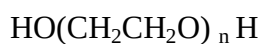


Кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Розчинний у воді *P*, практично не розчинний в етанолі (96%) *P*. Кількісний вміст: від 98,5% до 101,0 %.

Пропіленгліколь (ДФУ 2.2, 2014, с.563)

М.м. 76,10

Пропіленгліколь представляє безбарвну в'язку рідину солодкуватого смаку, без запаху, гігроскопічна. Змішується з водою, 95% спиртом етиловим, хлороформом у всіх співвідношеннях. Густина від 1,034 до 1,038, показник заломлення від 1,432 до 1,433, температура кипіння від 185 до 189 °С.

Поліетиленоксид 400 (Макроголи ДФУ 2.2, 2014, с. 424)

Поліетиленоксид 400 представляє безбарвну в'язку рідину, без запаху, гігроскопічна. Змішується з водою, дуже легко розчинний в ацетоні, 96 % етанолі і метиленхлориді, практично не розчинний в оліях і мінеральних маслах.

Вода для ін'єкцій (ДФУ 2.2, 2014, с.125).

М.м.18,02

Прозора, безбарвна рідина. Питома електропровідність: не більше 1,1 мкСм*см⁻¹ при 20 °С (етап 1); не більше 2,1 мкСм*см⁻¹ при (25±1) °С (етап 2); від 2,1 (рН 6,6) до 4,7 (рН 5,0) (етап 3, табл. 0169-3).

Нітрати: Не більше 0,00002 % (0,2 ppm). Мікробіологічна чистота: Підхожа межа, що вимагає вживання заходів - 10 КУО/100 мл. Бактеріальні ендотоксини: Менше 0,25 МО/мл (2.6.14).

2.3. Методи оцінки фізико-хімічних характеристик основної сировини

Ідентифікація

Для ідентифікації застосовували метод спектрометрії в інфрачервоній області. ІЧ-спектр субстанції, знятий в диску з калію бромідом (близько 1 мг субстанції в 200 мг калію броміду) в області від 4000 см⁻¹ до 400 см⁻¹, по положенню полос поглинання повинен відповідати спектру стандартного зразка дигідрокверцетину EP CRS (рис.2.6).

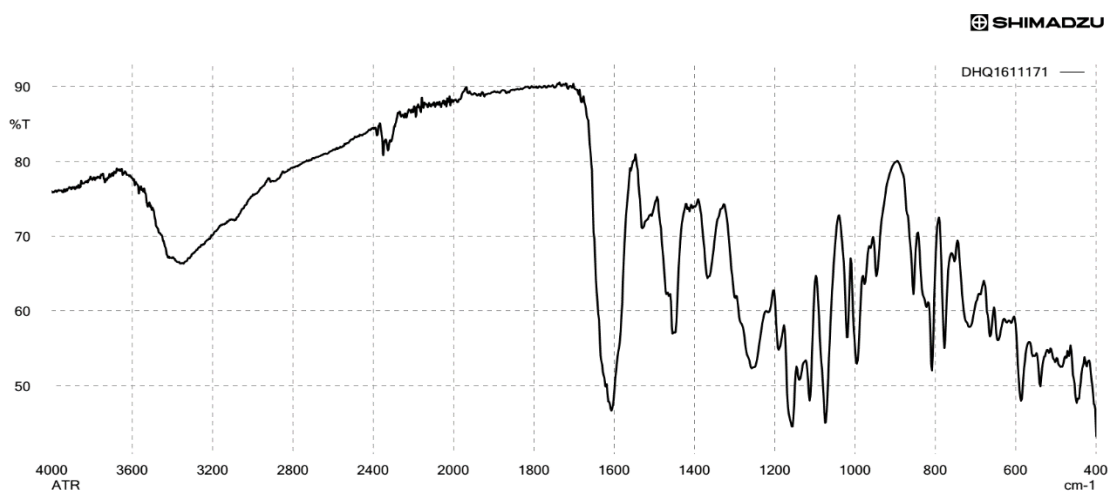


Рис.2.6. ІЧ-спектр субстанції дигідрокверцетину.

Сторонні домішки

Сторонні (супутні) домішки визначають методом ВЕРХ. Вміст одиначної домішки не більше 4,0 %. Сума усіх домішок - не більше 5,0 %. Для визначення домішок розроблена методика з використанням колонки хроматографічної розміром 250 × 4,6 мм, заповненої сорбентом типу LiChro - spher 100 RP - 18 (e) з розміром часток 5 мкм або аналогічну. Рухома фаза: - Градієнтне елюювання:

Час, хв	ПФ А, % об/об	ПФ Б, % об/об
0-5	100	0
5 -20	100→0	0→100
20-25	0	100
25-27	0→100	100→0

Швидкість потоку - 0,8 мл/хв; температура колонки -40 °С; детектор - УФ, $\lambda = 291$ нм; об'єм проби – 10 мкл.

Хроматографіюють випробовуваний розчин, розчин порівняння (а), розчин порівняння (b), розчин для перевірки придатності хроматографічної системи і розчинник. При розрахунку вмісту домішок (X) в субстанції, використовують метод внутрішньої нормалізації:

$$X = \frac{S_i}{\sum S_i} \times 100, \quad (2.1)$$

де S_i - площа будь-якого піку, на хроматограмі випробовуваного розчину, піків, визначених на хроматограмі розчинника;

$\sum S_i$ - сума площ усіх піків, на хроматограмі випробовуваного розчину, за винятком піків, визначених на хроматограмі розчинника.

Не враховують піки, площа яких складає менше 1 % від площі піку дигідрокверцетина на хроматограмі розчину порівняння (в), а також піки присутні на хроматограмі розчинника. Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови: - ефективність хроматографічної системи, розрахована по піку дигідрокверцетина на хроматограмах розчину порівняння (а) має бути не менше 8000 теоретичних тарілок;

Коефіцієнт розділення піків дигідрокверцетина і кверцетина, розрахований з хроматограм розчину для перевірки придатності хроматографічної системи має бути не менше 1,5.

Залишкові кількості органічних розчинників.

Залишкові кількості органічних розчинників в субстанції ДГК проводять методом газової хроматографії. Вміст етанолу має бути не більше 2 % (у перерахунку на 96% спирт). Використовують реактиви: спирт етиловий 96 %, 1,4-диоксан, пропанол – 1.

Аналіз поводити на газовому хроматографі, із полум'яно-іонізаційним детектором; колонка скляна, довжиною 260 см, внутрішнім діаметром 3,2 мм, заповнена сорбентом "Хроматон N AW", розмір часток 0,160 - 0,200 мм.

Кількісне визначення дигідрокверцетину

Кількісне визначення дигідрокверцетину проводили методом ВЕРХ в тих же умовах як при визначенні супровідних домішок.

Вміст $C_{15}H_{12}O_7$ (дигідрокверцетину) повинен бути від 97,0% до 102,0%.

Також для кількісного визначення використовують метод спектрометрії в УФ-ВИД області.

Усі застосовувані методики для визначення якості субстанції ДГК валідовані, що не викликає сумнівів в якості вибраної субстанції для розробки оригінального ін'єкційного препарату (рис2.7).

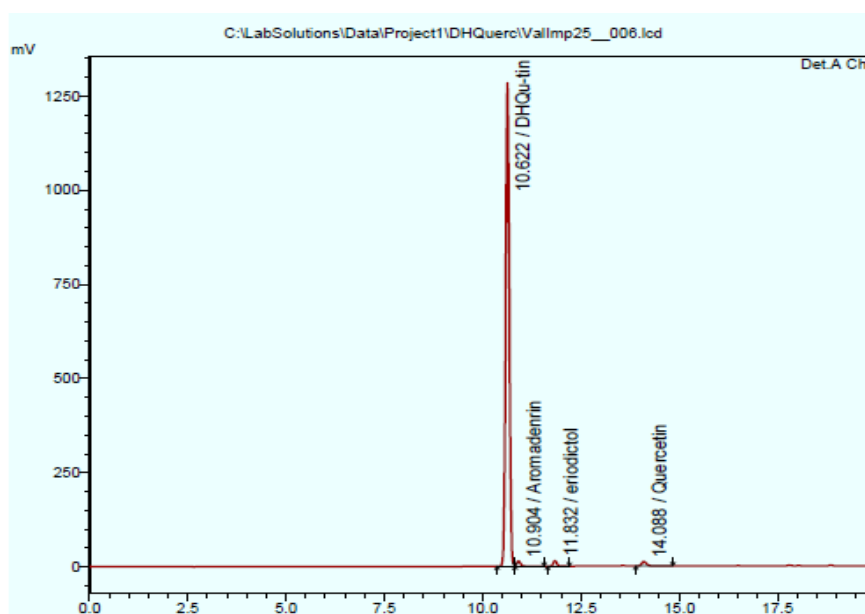


Рис.2.7. Хроматограма модельного розчину субстанції ДГК.

На різних етапах науково-дослідної роботи потенціометричне визначення рН усіх розчинів проводили згідно до вимог ДФУ 2.1, п. 2.2.3. на рН-метрі марки Mi-180, виробник MARTINI instruments (Румунія). Усі виміри проводили в інтервалі температур від 20 до 25 °С. Прилад калібрували за допомогою стандартних буферних розчинів.

2.4. Методи оцінки показників якості парентеральних розчинів

Оцінку показників якості ЛЗ «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл» проводили згідно вимог ДФУ [33], як і для ін'єкційних розчинів, використовуючи методи, що вказані в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

Показники якості ін'єкційного розчину ДГК, що визначаються відповідно до фармакопейних методик

№ з/п	Показник якості	Метод контролю	Нормативний документ
1	2	3	4
1.	Прозорість	Візуальний	ДФУ, 2.2.1
2.	Кольоровість	Візуальний	ДФУ, 2.2.2
3.	pH розчину	Потенціометричний	ДФУ, 2.2.3
4.	Об'єм, що витягається	Об'ємний	ДФУ, 2.9.17
5.	Стерильність	Мембранної фільтрації	ДФУ, 2.6.1
6.	Бактеріальні ендотоксини	ЛАЛ-тест	ДФУ, 2.6.14
7.	Механічні включення: - видимі частки - невидимі частки	Практично вільний від часток. Часток з розміром ≥ 10 мкм має бути не більше 6000 в ампулі; часток з розміром ≥ 25 мкм має бути не більше 600 в ампулі	ДФУ, 2.9.20 ДФУ, 2.9.19, метод 1

Нижче викладені методики, які не описані у фармакопеях, згідно яким визначали показники, необхідні для даної роботи та які є критеріями якості.

2.5. Методика визначення впливу фільтруючих матеріалів на розчини

У 3 колби з притертими пробками поміщають зразок розчину «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл» та

досліджуваний фільтруючий матеріал у співвідношенні 1 мл випробуваного розчину на 1 см² фільтруючого матеріалу. В 1 колбу з притертою пробкою поміщають контрольний розчин без фільтруючого матеріалу. Колби закривають і витримують при температурі 15-25 ° С та протязі 3 діб. По закінченні часу витримки випробуваний розчин аналізують за такими показниками: прозорість, кольоровість, рН розчину, кількісний вміст відповідно до методик, описаних в МКЯ.

Фільтруючий матеріал вважається придатним, якщо показники 3-х паралельних випробувань збігаються з показниками контрольного розчину.

2.6. Методика визначення вмісту розчиненого кисню

Приготування розчину А: в 1 л води для ін'єкцій розчиняють 500 г натрію гідроксиду і 150 г калію йодиду.

У колбу ємністю 200 мл вносять 200 мл досліджуваної води для ін'єкцій, потім послідовно 1 мл 42,5% розчину марганцю хлориду і 1 мл розчину А. Колбу закривають пробкою і збовтують кілька разів. Дають відстоятися й осад розчиняють додаванням 2-3 мл кислоти сірчаної або хлористоводневої концентрованої. Колбу знову обережно збовтують і переливають вміст у конічну колбу. Йод, що виділився, титрують 0,01 М розчином натрію тіосульфату. Індикатор – розчин крохмалю.

Кількісний вміст кисню (X), у г/л, розраховують за формулою:

$$X = V_1 \times 8 \times 1000 / V, \quad (2.2)$$

де V – об'єм проби, мл;

8 – г/екв кисню.

2.7. Розрахунок кількості вихідних речовин

Субстанції та допоміжні речовини, які являються вихідними інгредієнтами ЛЗ мають певний кількісний вміст основної речовини і містять

вологу. Залежно від процентного вмісту й вологи сировини, яку обрали для розробки складу ЛЗ, при розробці складу необхідно здійснювати розрахунок необхідної кількості субстанції та допоміжних речовин у технічній масі по формулі:

$$X_2 = V \times X_1 \times 100 / 100 - b, \quad (2.3)$$

де X_2 – маса наважки, мг;

V – об'єм завантаження, мл;

X_1 – концентрація речовини в 100%, мг/мл;

b – волога, %.

2.8. Статистична обробка результатів дослідження

Статистичну обробку результатів експерименту з розробки складу і технології розчину «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл» та методів аналізу і результатів контролю проводили відповідно до ДФУ [33].

Дані статистичної обробки результатів досліджень на прикладі вибірки експериментальних значень, отриманих при вимірі рН у досліджуваних розчинах, наведені в табл. 2.3 і 2.4.

Таблиця 2.3

Результати однорідної вибірки результатів виміру рН

№ виміру	x_i	d_i	d_i^2
1	7,05	0,002	0,000004
2	7,06	0,008	0,000064
3	7,05	0,002	0,000004
4	7,04	0,012	0,000144
5	7,06	0,008	0,000064
$n = 5$	$\bar{\tilde{o}} = 7,052$		$\Sigma d_i^2 = 0,00028$

Таблиця 2.4

Метрологічні характеристики середнього результату

n	ν	$\bar{\sigma}$	S^2	$S\bar{\sigma}$	P	t(P, ν)	Δ_x	$\Delta\bar{\sigma}$	$\bar{\varepsilon}$
5	4	7,052	$7,00 \cdot 10^{-5}$	$3,74 \cdot 10^{-3}$	95%	2,7764	0,02	0,01	0,17%

Висновки до розділу 2

1. Представлений науково-методичний підхід до розробки оригінального ЛЗ «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл», представлена методологія маркетингового дослідження, алгоритм досліджень з розробки складу та технології ЛЗ.
2. Вибрана субстанція дигідрокверцетину; досліджена і підтверджена її висока якість для отримання парентерального розчину.
3. З метою стабілізації розробленого парентерального ЛЗ вибрані допоміжні речовини, представлені їх фізико-хімічні властивості.
4. Для стандартизації розробленого ЛЗ використані сучасні фізико-хімічні, мікробіологічні, технологічні методи досліджень.
5. Розроблені оригінальні методики якісного і кількісного визначення діючої та допоміжних речовин в ЛЗ, що увійшли до проекту МКЯ і дозволяють здійснювати об'єктивний контроль препарату в процесі виготовлення та зберігання.

РОЗДІЛ 3

НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ НЕОБХІДНОСТІ РОЗРОБКИ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ НА ВІТЧИЗНЯНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ РИНОК ОРИГІНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ

3.1. Дослідження динаміки продажів ангіопротекторів, які використовуються у лікуванні серцево-судинних захворювань і хронічної венозної недостатності

Серед захворювань, що поражають працездатні групи населення, серцево-судинні захворювання, в тому числі ХВН – найпоширеніші патології. На фоні суттєвих змін у стилі життя (офісна робота, автомобільне пересування упродовж тривалого часу тощо), прийому гормональних препаратів, насамперед у жінок (від гормональних контрацептивів до гормональної замісної терапії), суттєво підвищився ризик розвитку ССЗ, в т.ч. ХВН у людей. У сучасному визначені, під терміном «хронічна венозна недостатність» розуміють низку захворювань, що призводять до тривалого (часто пожиттєвого) порушення венозного відтоку з нижніх кінцівок людини [178].

До основних причин ХВН відносять – варикозну хворобу і тромбоз глибоких вен. Епідеміологічні дослідження показали, що ХВН має значний соціально-економічний вплив у світі внаслідок високої поширеності, а також вартості лікування [178, 255]. Міжнародним дослідженням (країни ЄС, Канади, США, Великобританії) хворих на ХВН доведено, що щорічні витрати на подолання хвороби становлять від 687,0 до 1200,0 млн. євро в країнах Західної Європи (1-2 % від загального бюджету охорони здоров'я) і майже 3500,0 млрд. доларів у країнах Північної Америки (США та Канада) [254]. На даний час лікування ХВН здійснюється з використанням комплексного підходу, при цьому застосовується широкий арсенал ЛП, що належать до різних фармакотерапевтичних груп. Враховуючи той факт, що

вітчизняна система охорони здоров'я знаходиться на стадії глибоких перетворень у напрямку впровадження соціально орієнтованих форм й методів обслуговування населення актуальним є аналіз реалізації препаратів, які використовуються у лікуванні ССЗ та ХВН.

Мета дослідження – проведення аналізу динаміки змін показників продажів ЛП, які застосовуються у лікуванні ССЗ в Україні. До групи ЛП, що досліджувалися нами були віднесені препарати різних фармакотерапевтичних груп, які представлені у протоколах лікування ССЗ, а також для профілактики тромботичних ускладнень у хірургії, ортопедії і травматології, акушерстві та гінекології (наказ МОЗ України №329 від 15.06.2007 р. зі змінами та доповненнями). Так, до означеної групи препаратів нами були віднесені ліки, що мають наступні коди за АТС класифікаційною системою – C05-Ангіопротектори, в т. ч. CA – Біофлавоноїди та C05CX – Інші капіляростабілізуючі засоби.

За результатами проведеного моніторингу показників продажів ЛП, що використовуються у патогенетичному та симптоматичному лікуванні ССЗ і ХВН за 2008-2019 рр.. на вітчизняному ФР нами встановлено наступне (табл.3.1). Зазначений сегмент ринку характеризується як такий, що активно та динамічно розвивається. Більш детально зупинимось на аналізі даних динаміки змін показників продажів ЛП із групи C05-Ангіопротектори. У 2019 р. обсяг реалізації, який представлений у національній валюті, порівняно з даними базового в аналізі 2008 р. збільшився у 6,5 рази з 284,51 млн. грн до 1837,18 млн. грн. У доларах США обсяг продажів ЛП з групи ангіопротекторів зріс з 55155,25 до 66 238,35 тис. дол. США, тобто всього у 1,2 рази, а в упаковках – навпаки він знизився на 13,19%, з 17027,2 тис. упаковок у 2008 р. до 14781,3 тис. упаковок у 2019 р. Так, за даними продажів, що представлені у національній валюті ми спостерігали перманентне зростання показників, з максимальним (30,0%) значенням темпів приросту (%) даних у 2010 р., порівняно з даними попереднього періоду, а мінімальне зростання спостерігалось у 2019 р. (4,0%). За даними

аналізу показників реалізації препаратів із групи С05-Ангіопротектори упродовж 2008-2019 рр., що представлені у шт. упаковок нами встановлено, що середнє значення ланцюгового $k=0,99$. Максимальне значення приросту показників продажів ми спостерігали у 2017 р. (14,%), а мінімальне – за даними 2011 р. (2,0%). При цьому слід зазначити, що зниження продажів, порівняно з попередніми даними, ми спостерігали у 2010, 2014 та 2015 рр. Так, зниження показників дорівнювало 20,0%, 17,0% та 16,0% відповідно. Тобто, можна стверджувати, що на фоні стрімкого падіння обсягів продажів ЛП та товарів аптечного асортименту, який ми спостерігали у 2014-2015 рр. на вітчизняному ФР на фоні катастрофічного знецінення національної валюти, зниження реальної купівельної спроможності значної частки населення України, зменшення обсягів продажів препаратів із групи С05-Ангіопротектори виглядає логічним. Ще менш позитивним, з позиції розвитку вітчизняного ФР виглядають результати аналізу динаміки продажів препаратів із означеної групи, який представлено у дол. США. Максимальні значення приросту даних продажів спостерігалися за даними 2010 р.(27,%), а мінімальні – 2016 р. всього на 4,0%.

Як свідчать дані табл. 3.1 при наявності середнього значення ланцюгового $k=1,04$ за даними 2014 р. та 2015 р. ми спостерігали катастрофічне зниження обсягів продажів на 25,0% та 37,0% відповідно. Вже у 2016 р. на означеному сегменті ФР почали процеси поступового зростання обсягів продажів на 4,0%, порівняно з даними попереднього періоду. У подальшому зазначений сегмент ФР продемонстрував зростання реалізації препаратів з групи С05-Ангіопротектори вже на 23,0%.

Далі нами були розраховані дані умовної вартості однієї упаковки препаратів із групи, що досліджується. Результати досліджень наведені на рис.3.1.

Таблиця 3.1

**Результати аналізу динаміки продажів препаратів групи C05-Ангіопротектори на вітчизняному ФР
упродовж 2008-2019 рр.**

Показники аналізу по роках дослідження											
2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Обсяг реалізації, млн грн											
284,51	342,92	444,19	518,23	617,42	712,62	771,09	916,97	1125,02	1438,16	1767,13	1837,18
Значення коефіцієнтів росту/зниження обсягів реалізації, млн грн											
–	1,21	1,30	1,17	1,19	1,15	1,08	1,20	1,23	1,28	1,22	1,04
Обсяг реалізації, тис. дол. США											
55155,25	44020,56	55996,33	65037,57	77263,19	89154,75	66752,03	42239,06	44039,52	54120,16	65165,85	66238,35
Значення коефіцієнтів росту/зниження обсягів реалізації, тис. дол. США											
–	0,80	1,27	1,16	1,19	1,15	0,75	0,63	1,04	1,23	1,20	1,02
Обсяг реалізації, тис. упаковок											
17027,2	13531,8	15174,1	15398,2	15842,5	16283,9	13495,4	11382,3	12261,7	13980,5	14451,2	14781,3
Значення коефіцієнтів росту/зниження обсягів реалізації, тис. упаковок											
–	0,80	1,12	1,02	1,03	1,03	0,83	0,84	1,08	1,14	1,03	1,02

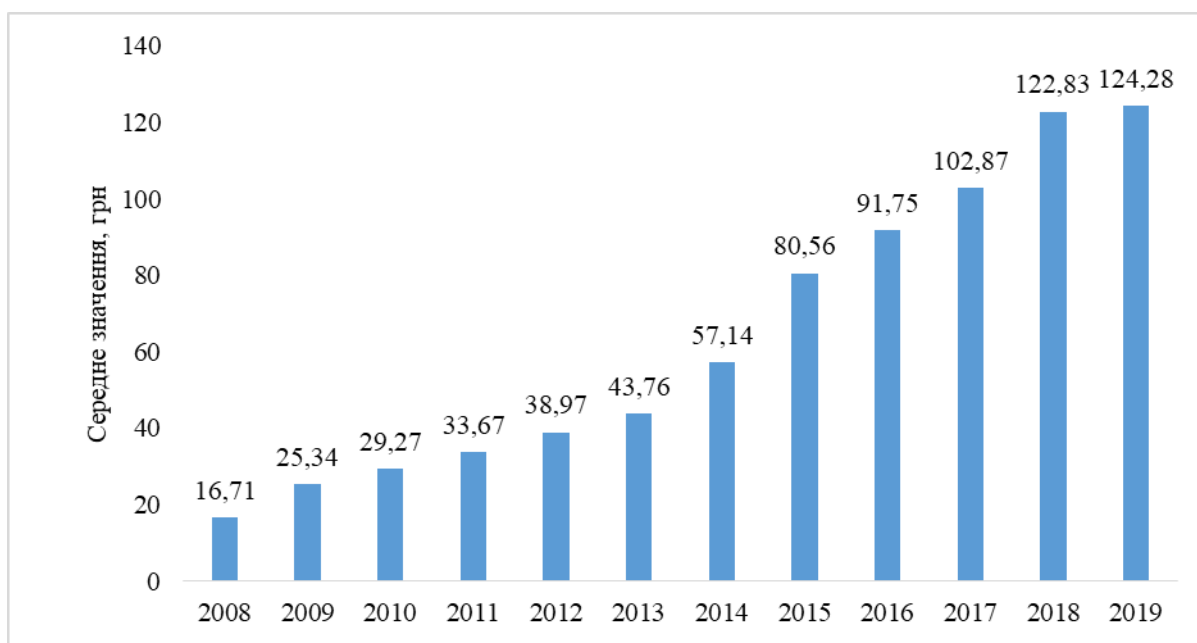


Рис.3.1. Аналіз динаміки змін умовної вартості однієї упаковки ліків, що були реалізовані в сегменті вітчизняного ФР із групи С05-Ангіопротектори упродовж 2008-2019 рр.

Звертає на себе увагу стрімке зростання умовної вартості однієї упаковки ЛП з 16,71 (2008 р.) грн до 124,28 грн (2019 р.). тобто у 7,5 рази. Зазначений факт виглядає, з соціально-економічної точки зору, загрозливим з приводу доступності ЛП, які використовуються у лікуванні ХВН та ССЗ в цілому. Враховуючи імпортозалежність вітчизняного ФР зазначений факт підкреслює необхідність розробки більш доступних препаратів вітчизняного виробництва.

Наступним етапом наших досліджень стало проведення аналізу обсягів продажів ЛЗ кверцетину, як максимально близьким по фармакологічній дії до розроблених нами препаратів. Для аналізу нами були відібрані наступні препарати: Квертин табл. жув. 40 мг по 10 табл. у блістері та по 90 табл. в контейнері виробництва «ВАО БХФЗ»; Корвітин[®] ліоф. пор. для вигот. розчину для ін. 5 флаконів у касеті, по 1 касеті у пеналі виробництва «ВАО БХФЗ»; по 90 таблеток в контейнері, по 1 контейнеру в пачці; Кверцетин гранули 0,04 г/1 г пакет 1 г, № 1, 20. Дані проведеного аналізу динаміки продажів представлені у табл.3.2.

Таблиця 3.2

**Результати аналізу обсягів реалізації
препаратів похідних кверцетину в Україні за 2016-2020 рр.**

Обсяги продажів препаратів по роках дослідження				
2016	2017	2018	2019	2020
Обсяг реалізації, млн грн				
115,62	143,91	174,66	216,17	210,15
Значення коефіцієнтів росту/зниження обсягів реалізації, млн грн				
—	1,24	1,21	1,24	0,97
Обсяг реалізації, тис. дол. США				
4512,6	5396,04	6414,79	8403,33	8295,15
Значення коефіцієнтів росту/зниження обсягів реалізації, тис. дол. США				
—	1,20	1,19	1,31	0,99
Обсяг реалізації, тис. упаковок				
1344,67	1375,96	1801,72	1204,81	1265,18
—	1,02	1,31	0,67	1,05

Аналізуючи дані, які представлені у табл. 3.2 можна стверджувати, що упродовж 2016-2019 рр. спостерігалась позитивна динаміка зростання обсягів продажів ЛП з групи кверцетину в Україні з 115,62 млн грн до 216,17 млн грн, тобто обсяг реалізації ліків зріс на 87,0 %. За даними 2020 р, порівняно з попередніми показниками, ми мали зниження реалізації на 3,0%. Якщо порівнювати дані 2020 р. з відповідними показниками реалізації, як спостерігалось у 2016 р. то можна стверджувати, що зазначений сегмент ринку препаратів зріс на 82,0%, а середнє значення ланцюгового дорівнювало $k=1,17$. Максимальне зростання (24,0 %) обсягів продажів препаратів кверцетину спостерігалися за даними 2017 р. та 2019 р. У дол. США продажі ЛП із групи кверцетину з 2016 р. також збільшувалися з 4512,6 до 8295,15 тис. дол. США, тобто у 1,84 рази. Максимальний (31,0 %) приріст показників продажів відмічається за даними 2019 р. Цікавим є той факт, що

середнє значення ланцюгового k за даними аналізу динаміки продажів, що представлені у дол. США та у гривні були тотожні ($k=1,17$).

Аналіз обсягів реалізації, які представлені у натуральних вимірниках (упаковки) дозволяє стверджувати про складність розвитку зазначеного сегменту ФР. Максимальний приріст показників продажів спостерігався за даними 2018 р. (на 31,0 %), а мінімальний – у 2017 р. (2,0 %). Упродовж 2016-2020 р. за показниками продажів препаратів із групи кверцетину значення ланцюгового дорівнювало $k=1,01$. Звертає на себе увагу значне зниження продажів, яке спостерігалось за даними 2019 р. Так, продажі препаратів із групи кверцетину знизилися, порівняно з попереднім роком на 33,0 % (з 1801,72 до 1204,81 тис. упаковок). При цьому, у наступному 2020 р. продажі зросли на 5,0 % та досягли значення 1265,18 тис упаковок.

Враховуючи різний характер змін показників обсягів продажів, що представлені у національній валюті та дол. США логічним є проведення аналізу динаміки змін середньої умовної вартості однієї упаковки упродовж 2016-2020 рр. Результати аналізу зазначеного показника наведено на рис. 3.2. Як бачимо за даними проведеного аналізу, зазначені показники коливалися у діапазоні значень від 85,98 грн (2016 р) до 179,42 грн (2019 р.) та від 3,36 дол. США (2016 р.) до 6,97 дол. США (2019 р.). Тобто можна стверджувати про наявність тенденції до зростання умовної вартості однієї упаковки препаратів кверцетину, як у національній валюті, так й у дол. США. При цьому, представлений показник у національній валюті у 2020 р, порівняно з аналогічними даними 2016 р. зріс на 99,0 %, а у доларах США на 107 %.

В цілому треба зазначити, що динаміка показників реалізації ЛЗ, що використовуються у лікуванні ССЗ і ХВН характеризується значною залежністю від дії комплексу зовнішніх факторів, насамперед, це фінансово-економічна криза, знецінення національної валюти, значне зниження купівельної спроможності населення, тощо. За цих умов, перспективним напрямком подальших досліджень стане аналіз факторів, що впливають на

якісні та кількісні показники споживання ЛП, які застосовуються у лікуванні ССЗ.

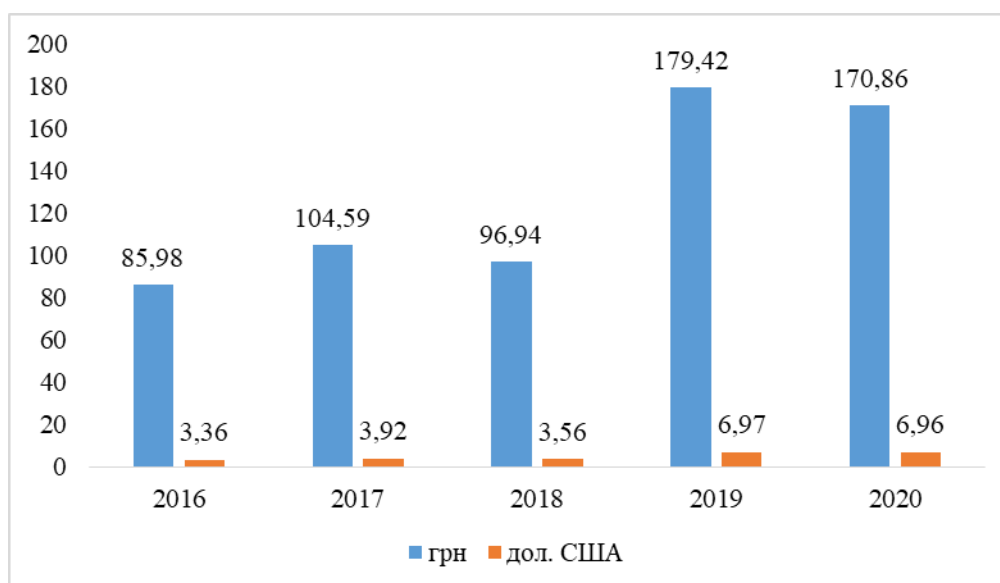


Рис.3.2 Аналіз динаміки змін умовної вартості однієї упаковки препаратів із групи кверцетину, які були реалізовані на роздрібному сегменті вітчизняного ФР упродовж 2016-2020 рр.

Сучасна парадигма цивілізаційного прогресу розвитку будь-якого суспільства передбачає перехід від домінанти економічного зростання, збільшення обсягів виробництва та споживання до усвідомлення сутності цих процесів задля досягнення найвищих цінностей у державі, а саме збереження життя та здоров'я громадян. Тому розвиток будь-якого сегменту фармацевтичного ринку повинен розглядатися через призму ефективного вирішення питань організації надання доступної медичної та фармацевтичної допомоги. Прийняття цього постулату означає необхідність зміни пріоритетів у розвитку системи фармацевтичного забезпечення населення в цілому.

3.2. Дослідження структури лікарських призначень препаратів кверцетину в Україні

З метою оцінки перспективності впровадження нових препаратів із

групи ангіопротекторів в організацію лікувально-профілактичного процесу виникає об'єктивна необхідність у проведенні досліджень структури лікарських призначень препаратів з означеної групи. Це й обумовило мету наших подальших досліджень

Мета дослідження – провести аналіз структури лікарських призначень препаратів кверцетину по лікарям різних спеціальностей.

За результатами проведених досліджень нами визначено, що у структурі спеціальностей більше половини лікарських призначень препаратів кверцетину було здійснено терапевтами або сімейними лікарями в амбулаторних умовах (рис.3.3).

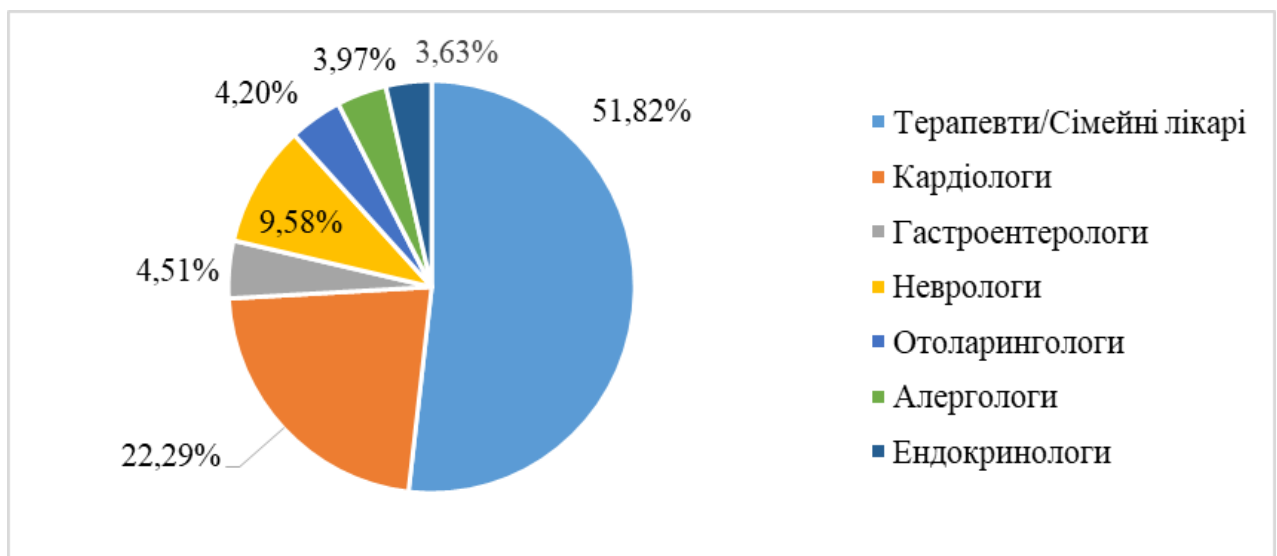


Рис. 3.3. Аналіз частоти лікарських призначень препаратів кверцетину та його похідних за основним діагнозом, ускладненням основного діагнозу та сукупним діагнозом за різними спеціальностями лікарів

На другій позиції були представлені кардіологи, а далі з істотним відривом – неврологи. Слід зазначити, що серед різних лікарів призначення кверцетину здійснювали фахівці з 7-ми спеціальностей. Це терапевти або сімейні лікарі, кардіологи, неврологи, гастроентерологи, отоларингологи, алергологи та ендокринологи. Слід зазначити, що за останніми 4-ма згаданими спеціальностями лікарів спостерігалась значна сегментація за

показником питомої ваги (%) у загальній кількості призначень. Так, даний показник коливався у незначному інтервалі значень від 3,63% (ендокринологи) до 4,51 % (гастроентерологи). Далі нами була проаналізована структура лікарських призначень за спеціальністю респондентів та основним діагнозом, його ускладненням та супутніми патологіями (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Результати структурного аналізу лікарських призначень за основним діагнозом, його ускладненням та супутніми патологіями за спеціальностями лікарів

Лікарські спеціальності	Питома вага лікарських призначень (%) у загальній їх кількості (100,0 %)		
	Основний діагноз	Ускладнення основного діагнозу	Супутні патології
Терапевти/Сімейні лікарі	89,7	7,1	3,2
Кардіологи	95,4	3,4	1,2
Гастроентерологи	95,2	—	4,8
Неврологи	92,9	—	7,1
Отоларингологи	100,0	—	—
Алергологи	—	—	100,0
Ендокринологи	—	—	100,0

Звертає на себе увагу той факт, що за основним діагнозом призначення препаратів кверцетину у 100,0 % випадків здійснюють лікарі таких спеціальностей, як отоларингологи, а за супутніми патологіями – алергологи та ендокринологи. Цей факт, на наш погляд, пов'язаний з необхідністю використання зазначених препаратів саме у патогенетичному й

симптоматичному лікуванні хворих, що звертаються до лікарів означених спеціальностей. У незначному діапазоні значень (від 89,7 % до 95,4 %, варіаційних розмах показників дорівнював 1,19%) коливались показники частоти призначень терапевтами/сімейними лікарями та кардіологами відповідно препаратів кверцетину у фармакотерапії основного захворювання. При цьому, ускладнення основного діагнозу обумовлює призначення препаратів кверцетину лише у незначній кількості лікарів означених спеціальностей (терапевти/сімейні лікарі – 7,1 %; кардіологи – 3,4 %). Таким чином, наявність симптокомплексу, який пов'язаний з розвитком патологічного процесу (у більшості випадків хронічного характеру) лікарями зазначених спеціальностей не розглядався як важливий в обґрунтуванні призначень препаратів кверцетину. Означене твердження справедливе також у разі застосування означених препаратів у лікуванні супутніх патологій у практиці гастроентерологів (4,8 %), терапевтів/сімейних лікарів (3,2 %) та кардіологів (1,2 %).

Респондентам було запропоновано відмітити ті діагнози (МКХ-10) та патології, за якими вони призначають препарати кверцетину у трьох обраних нами опціях (основний діагноз, ускладнення основного діагнозу та супутні патології). Аналіз структури лікарських призначень наведені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Результати структурного аналізу лікарських призначень за діагнозами у відповідності до МКХ-10 (2019 р.)

Код діагнозу*	Діагноз за МКХ-10	Питома вага лікарських призначень (%) за		
		ОД**	УОД***	СП****
1	2	3	4	5
J06.9	Гострі інфекції верхніх дихальних шляхів множинної та неуточненої локалізації	100,0	—	—

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5
I 10	Есенціальна (первинна) гіпертензія	100,0	—	—
I 20.0	Нестабільна стенокардія	86,5	9,6	3,9
I 20.8	Інші форми стенокардії	89,3	6,8	3,9
I 25.1	Атеросклеротична хвороба серця	77,1	8,7	14,2
I 25.2	Перенесений у колишньому інфаркт міокарду	89,5	4,7	5,8
I 25.9	Ішемічна кардіоміопатія	37,8	10,0	52,2
I 42.6	Алкогольна кардіоміопатія	100,0	—	—
I 43.8	Кардіоміопатії при різних хворобах, що класифікованих в інших класах	100,0	—	—
I 50.9	Серцева недостатність неуточнена	—	86,5	13,5
I 67.3	Прогресуюча судинна лейкоенцефалопатія	83,2	—	16,8
F 45.8	Інші соматоформні розлади	100,0	—	—
K 29.5	Хронічний гастрит неуточнений	91,7	8,3	—
K 29.9	Гастрит та дуоденід	94,5	—	5,5
K 30	Функціональна диспепсія	100,0	—	—
R 04.0	Кровотеча із дихальних шляхів	100,0	—	—

Примітки:

1. * – код діагнозу за різними рівнями МБХ-10 (редакція 2019 р.);
2. ** – основний діагноз;
3. *** – ускладнення основного діагнозу;
4. **** – супутні патології

Систематизуючи результати проведених досліджень можна стверджувати про наступне. У 100,0 % випадків лікування за основним діагнозом лікарі вважають доцільним здійснювати призначення препаратів кверцетину у фармакотерапії таких патологій: гострі інфекції верхніх дихальних шляхів множинної та неуточненої локалізації; есенціальна (первинна) гіпертензія; алкогольна кардіоміопатія; кардіоміопатії при різних хворобах, класифікованих в інших класах; інші соматоформні розлади; функціональна диспепсія; кровотеча із дихальних шляхів.

Важливе значення, на думку фахівців, досліджуванні препарати мають в лікуванні основного захворювання у хворих на серцево-судинні патології (37,8 % у разі лікування ішемічної кардіоміопатії; до 89,5 % у фармакотерапії інших форм стенокардії та раніше перенесеного інфаркту міокарду). Достатньо високі значення частоти лікарських призначень зазначені препарати зберігають у гастроентерологічній практиці. Так, у лікуванні функціональних розладів означений показник коливався від 91,7 % (хронічний гастрит неуточнений) до 100,0 % (функціональна диспепсія). При проведенні фармакотерапії ускладнень основного захворювання лікарі призначали препарати кверцетину значно рідше. Так, питома вага (%) таких призначень коливалась від 4,7 % (перенесений раніше інфаркт) до 10,0 % (ішемічна кардіоміопатія). Профіль лікарських призначень у разі лікування супутніх патологій з використанням препаратів кверцетину був порівняно складнішим за характером показників. Так, найвищі значення даних питомої ваги (%) призначень спостерігалися у разі лікування ішемічної кардіоміопатії (52,2 %), а найнижчі – нестабільної стенокардії та інших форм стенокардії (3,9 %). Більше 10,0% лікарських призначень препаратів з означеної групи спостерігались у разі фармакотерапії супутніх патологій у пацієнтів з атеросклеротичною хворобою серця (14,2 %), серцевою недостатністю, неуточненої етіології (13,5 %) та прогресуючої судинної лейкоенцефалопатії (16,8 %). Означені дані дозволяють стверджувати, що препарати кверцетину займають у переважній більшості домінуючі позиції у лікуванні основних

патологій, насамперед, у кардіології.

Враховуючи той факт, що при анкетуванні лікарі відмічали діагнози за різним рівнями МКХ-10, на наступному етапі роботи виникла необхідність систематизувати результати дослідження. Так, далі нами був проведений структурний аналіз питомої ваги (%) лікарських призначень препаратів кверцетину за першим рівнем МКХ-10 (рис. 3.4.).

Коментуючи отримані результати неможливо не відмітити, що більш $\frac{3}{4}$ всіх призначень лікарі здійснюють у лікуванні І-хвороб системи кровообігу (78,97 %), на другій позиції з значним відривом представлені J-Хвороби системи дихання (11,30 %), а на третій позиції – К-Хвороби системи травлення (6,04 %). Це досить показовий характер профілю лікарських призначень за препаратами кверцетину, що здійснюють лікарі різних спеціальностей в Україні.

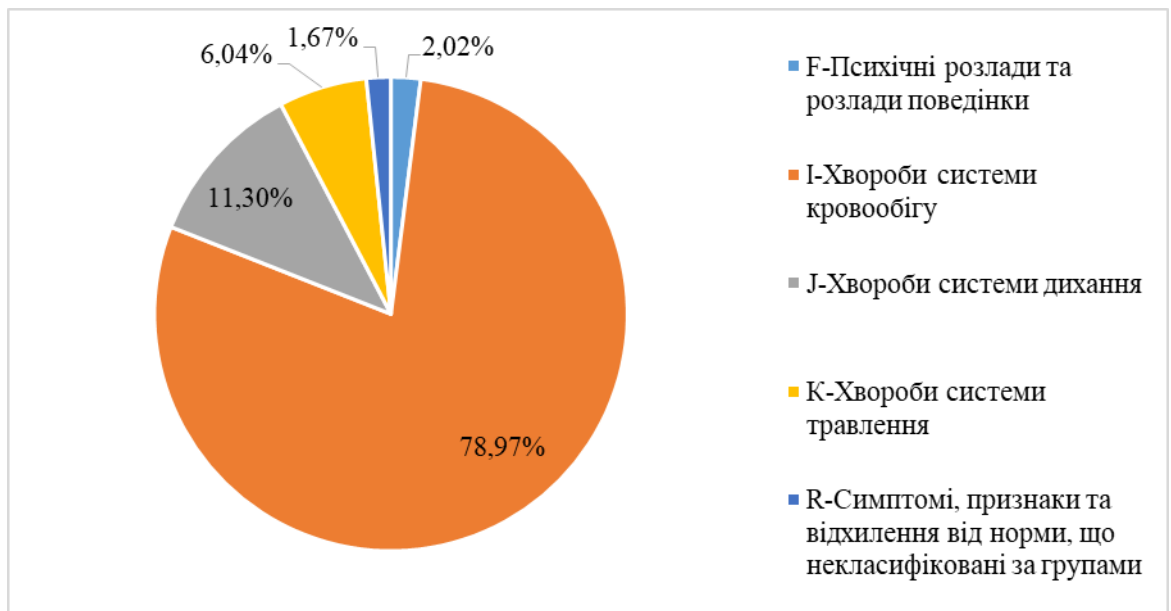


Рис. 3.4. Аналіз структури лікарських призначень (питома вага, %) у відповідності до 1-го рівня МКХ-10

Враховуючи безумовне домінування лікарських призначень, що здійснюється у лікуванні серцево-судинних патологій, нами був проведений аналіз їх структури за 2-м рівнем класифікації МКХ-10 (рис. 3.5).

Як бачимо, приблизно половини лікарських призначень (49,60 %) здійснюється у разі надання медичної допомоги хворим зі стенокардією. Кожному п'ятому хворому з діагнозом «хронічна ішемічна хвороба серця» лікарі також призначали препарати кверцетину, а кожному десятому – з діагнозом «інші цереброваскулярні хвороби». Найменшу питому вагу (1,58%) мали призначення препаратів, що досліджувалися у разі лікуванні кардіоміопатій при хворобах, що представлені в інших групах класифікації МКХ-10 (I 67 за МКБ-10). У лікування всіх інших серцево-судинних патологій показник питомої ваги (%) призначень препаратів кверцетину коливався у незначному діапазоні значень, тобто від 2,38 % (кардіоміопатії) до 6,47 % (гострий інфаркт міокарду).



Рис. 3.5 Результати структурного аналізу лікарських призначень хворим серцево-судинними патологіями за 2-м рівнем МКХ-10 (версія 2019 р.)

Підсумовуючи результати проведених досліджень можна визначити три основні характеристики, які нами встановлені за даними структурного аналізу лікарських призначень препаратів кверцетину. По-перше, безумовним є той факт, що у переважній більшості респондентів (окрім алергологів та ендокринологів) зазначені препарати призначаються у разі лікування хворого за основним діагнозом. По-друге, звертає на себе увагу значне домінування лікарських призначень у лікуванні серцево-судинних патологій, що обумовлено дією цілого комплексу факторів, які детально проаналізовані у сучасних роботах вчених з означеної проблематики [159, 199]. За цим напрямком, результати проведених досліджень не суперечать даним спеціальної літератури [230], а лише підкреслюють медико-фармацевтичну значущість більш активного використання препаратів кверцетину та у лікуванні патологій, що мають важливе соціально-економічне значення для країни. Як відомо, серед причин смертності населення України перші позиції займають ССЗ [192, 193].

Результати проведених нами досліджень, а також дані спеціальної літератури за означеною проблематикою дають змогу стверджувати про значний потенціал у використанні нових препаратів-ангіопротекторів, в т.ч. дигідрокверцетину, у патогенетичному лікуванні серцево-судинних патологій. По-третє, необхідно відмітити факт рівня лікарських призначень препаратів, що досліджується у практичній діяльності лікарів різних спеціальностей. Так, враховуючи широкий спектр фармакотерапевтичної активності біофлавоноїдів у лікуванні різних патологічних станів, в т. ч. тих, що загрожують життю пацієнтів [231], ускладнень від їх хронічного протікання [188] у нас виникає питання стосовно низької кількості або відсутності призначень препаратів кверцетину у роботі лікарів таких спеціальностей, як офтальмологи, онкологи, імунологи, хірурги, ревматологи тощо. Вказане підкреслює об'єктивну обмеженість отриманих результатів досліджень та буде обумовлювати напрямки наших перспективних досліджень з означеної тематики.

Спираючись на вищезазначене, вважаємо за необхідне, що основним напрямком наших досліджень стане аналіз рівня інформаційної обізнаності лікарів за різними спеціальностями з питань розширення можливостей використання препаратів кверцетину у лікуванні хронічних патологій, ефективна фармакотерапія яких має важливе соціально-економічне значення. Наступним напрямком досліджень стане організаційно-економічне обґрунтування можливостей розширення асортименту вітчизняних препаратів ангіопротекторів, враховуючи сучасний профіль лікарських призначень означених ліків у практичній діяльності лікарів різних спеціальностей. У переважній більшості ці препарати використовуються лікарями у патогенетичному та симптоматичному лікуванні хворих з основним діагнозом хворих на серцево-судинні патології, а також у лікуванні хронічних ускладнень та супутніх захворювань. На нашу думку, одним із важливих факторів, який би дозволив суттєво підвищити рівень споживання означених препаратів, фармакотерапевтична значущість яких з роками не втрачає своєї актуальності для національних систем охорони здоров'я, є розширення державних гарантій щодо реімбурсації ліків населенню з низькими доходами, а також хворих на ССЗ.

Висновки до розділу 3:

1. За даними аналізу продажів препаратів з групи C05-Ангіопротектори на вітчизняному ФР упродовж 2008-2019 р. можна стверджувати, що зазначений сегмент ринку є таким, який активно та динамічно розвивається. Так, у 2019 р. обсяг реалізації у грн., порівняно з даними 2008 р. збільшився у 6,5 рази (з 284,51 до 1837,18 млн. грн.), у дол. США – у 1.2 рази (з 55155,25 до 66 238,35 тис. дол. США).

2. За 2008-2019 рр. встановлено, що умовна вартість однієї упаковки ЛП із групи C05-Ангіопротектори зросла з 16,71 (2008 р.) грн до 124,28 грн (2019 р.), тобто у 7,5 рази. Враховуючи низький рівень виконання

державних гарантій з надання населенню доступної медичної та фармацевтичної допомоги зазначений факт має з медико-соціальної точки зору загрозливий характер для хворих.

3. Встановлено, що упродовж 2016-2019 рр. на вітчизняному ФР, на якому представлені препарати із групи C05-Ангіопротектори відмічається позитивна динаміка зростання обсягів продажів ЛП з 115,62 млн грн до 216,17 млн грн (на 87,0 %). У доларах США зростання відповідних показників дорівнювало 83,8% (з 4512,6 до 8295,15 тис. дол. США).

4. За результатами аналізу умовної вартості однієї упаковки препаратів кверцетину за 2016-2020 р., які були реалізовані на вітчизняному ФР встановлено, що зазначений ЛЗ коливалися у діапазоні значень від 85,98 грн (2016 р.) до 179,42 грн (2019 р.) та від 3,36 дол. США (2016 р.) до 6,97 дол. США (2019 р.). Тобто представлений показник у національній валюті у 2020 р, порівняно з аналогічними даними 2016 р. зріс на 99,0 %, а у дол. США на 107 %.

5. За результатами проведеного аналізу можна стверджувати, що переважна більшість респондентів (окрім алергологів та ендокринологів) препарати з групи кверцетину призначають у разі лікування хворого за основним діагнозом. Доведено значне домінування лікарських призначень препаратів кверцетину у лікуванні серцево-судинних патологій, що обумовлено дією цілого комплексу факторів, які детально проаналізовані у сучасних роботах вчених з означеної проблематики.

РОЗДІЛ 4

ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ДИГІДРОКВЕРЦЕТИНУ

4.1. Дослідження фізико-хімічних і технологічних властивостей ДГК

Для вибору оптимального складу й технології одержання стабільної лікарської форми нами вивчалися фізико-хімічні і технологічні властивості основної діючої речовини – дигідрокверцетину.

Дигідрокверцетин (ДГК) (таксіфолін, 3,5,7,3',4'- пента-гідроксифлаванон) відноситься до групи флаванонів класу флавоноїдних сполук та є одним із найбільш ефективних природних антиоксидантів. За молекулярною будовою і функціями близький до рутину і кверцетину.

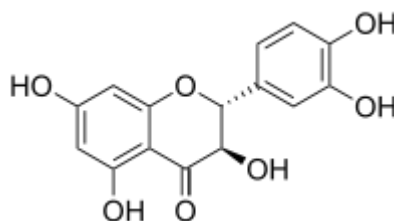


Рис. 4.1. Структурна формула ДГК.

ДГК є антиоксидантом прямої дії, безпосередньо зв'язує вільні радикали, є еталонним продуктом в порівнянні з усіма відомими, в тому числі і синтетичними антиоксидантами прямої дії. Його ефект істотно перевищує рівень дії широко відомих вітамінів А, С, Е. Під впливом ДГК вільні радикали відновлюються в стабільну молекулярну форму, не здатну брати участь в ланцюзі автоокиснення (перекисного окиснення ліпідів), яке є універсальним механізмом загибелі клітини [7, 186].

Слід зазначити особливу актуальність напрямку створення нових ефективних лікарських препаратів на основі ДГК у вигляді розчинів, в тому числі парентеральних, що дозволить підвищити рівень біодоступності цього

унікального природного біофлавоноїда і реалізувати його позитивний біологічний потенціал.

ДГК має низьку розчинність у воді. При підвищеній температурі вона збільшується: 20 ° С - 0,1 %; при 40°C - 0,3%; при 60°C - 1,0 % і при 90°C - від 3 до 5,3 %. В спиртах, водно-спиртових середовищах ДГК добре розчинний, але розчини нестабільні. Із зростанням концентрації спирту від 30 до 90 % розчинність зростає від 0,3 % до 18 %. В етилацетаті ДГК виявляє хорошу розчинність, при температурі 20 ° С розчинність становить близько 2,0 %; при 40 ° С - (8-12)%. В неполярних розчинниках ДГК не розчиняється (гексан, хлороформ). Також важливим є факт, що розчинність ДГК у воді зростає з ростом ступеня очистки субстанції майже в три рази.

Субстанцію ДГК отримують з деревини модрини сибірської (*Latix Sibirica Ledeb*) або даурської (*L. dahurica Turcz.*) з різним ступенем очистки: від 93,0 до 97,5 % [66, 128].

Незважаючи на велику кількість патентів в області отримання субстанції ДГК, до недавнього часу не вдавалося створити прийнятну технологію отримання його з високим ступенем очистки. Методи переосадження з розчинників призводять до аморфного продукту, із залишковим вмістом речовин, які не піддаються ідентифікації (смолоподні домішки). Це в значній мірі обумовлює низьку розчинність ДГК, навіть в гарячій воді. В ході вивчення літературних джерел та експериментальних досліджень було встановлено, що ступінь очистки субстанції ДГК впливає також на антиоксидантну активність. ТОВ «TAXIFOLIA» впровадила новітню технологію очистки субстанції ДГК з виходом продукту за основною речовиною 97,0 - 98,0 %, волога не більше 5 %. Саме цю субстанцію ми вибрали для подальших досліджень з розробки оригінального парентерального препарату на основі ДГК.

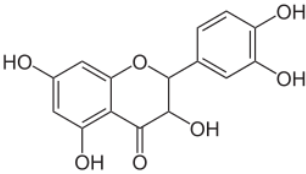
4.1.1. Фізико-хімічна характеристика субстанції ДГК

Субстанція ДГК не описана в ДФУ і в закордонних фармакопеях. Тому

для стандартизації субстанції були проведені дослідження із стабільності та розроблено проект МКЯ. Фізико-хімічні показники субстанції ДГК представлені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Фізико-хімічні показники субстанції ДГК

INN	Taxifolin
Брутто-формула:	C ₁₅ H ₁₂ O ₇
Структурна формула:	
Молекулярна маса	304,25
Опис:	Світло сірий, з жовтуватим відтінком порошок
Розчинність:	Дуже мало розчинний у воді, легко розчинний у спирті 96%, розчинний в етилацетаті.
Ідентифікація.	ІК-спектр субстанції повинен відповідати ІК-спектру стандартного зразка дигідрокверцетину УФ-ВИД спектр поглинання розчину препарату в області від 225 нм до 400 нм повинен мати максимуми поглинання при 291 ± 2 нм і мінімум при 251 ± 2 нм
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5%
Прозорість розчину.	5,0% розчин препарату в етанолі повинен бути прозорим
Питоме оптичне обертання	Від $+ 18,20^\circ$ до $+ 18,40^\circ$ в перерахунку на суху речовину.
Сульфатна зола	Не більше 0,1%
Важкі метали:	Не більше 0,001%
Сторонні домішки	Кожної окремої домішки не більше 4,0 %; сума домішок - не більше 5,0%.

Продовж. табл. 4.1

Залишкові органічні розчинники етанол	Не більше 2,0%
Кількісний вміст.	Від 97% до 102% (у перерахунку на суху речовину)
Мікробіологічна чистота:	Загальне число аеробних бактерій (ТАМС) не більше 10^3 КОЕ/г ; загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^2 КОЕ/г.

Проведений аналіз показників приводить до висновку, що отримання лікарських форм у вигляді розчинів на основі ДГК є складним процесом в силу його низької розчинності в воді, яка обумовлена властивостями флавоноїду, і яка є недостатньою для досягнення терапевтичної концентрації в розчині, навіть у субстанції з підвищеною розчинністю.

Тому нашим завданням було проведення НДР з метою підвищення розчинності ДГК за рахунок спрямованої модифікації структури, а також підбору системи модифікаторів розчинності, стабілізаторів, здатних забезпечити фізико-хімічну і мікробіологічну стабільність отриманих розчинів.

ДГК, як і багато інших флавоноїдів представляє собою слабку органічну кислоту, оскільки до його складу входять гідроксильні групи здатні дисоціювати, причому дисоціювати може кілька гідроксильних груп, кожна з яких характеризується своєю «мікроскопічною» константою дисоціації. Віднести кожен з таких констант до дисоціації певної гідроксильної групи досить складно. Однак, за допомогою спектрів ЯМР ^{13}C було показано, що ступінь дисоціації гідроксильних груп зростає в послідовності 5-ОН < 4'-ОН < 7-ОН [60, 153]. Таким чином, ДГК здатний утворювати солі з основами, як неорганічними (тобто з катіонами металів), так і з органічними.

4.2. Обґрунтування вибору допоміжних речовин для одержання розчину ДГК

Нами для отримання розчину ДГК були розглянуті органічні речовини такі як: трометамол, меглумін, амінокислоти лужної природи (L-аргінін, L-лізін). Вибір обумовлений фізико-хімічними та фармакологічними властивостями цих речовин [15, 16]. Важливими параметрами реакції, що визначають структури комплексних сполук флавоноїду і розглянутих допоміжних речовин (ДР), є рН розчину, використання певного розчинника, вихідні мольні співвідношення ДР і флавоноїда. Нами були складені передбачувані реакції ДГК з трометамолом, L- аргініном і меглуміном при мольних співвідношеннях 1:1 і 1:2. З урахуванням передбачуваної терапевтичної концентрації ДГК (1-2%) були розраховані кількості вихідних інгредієнтів для отримання розчинів (Звіт ДП «ДНЦЛЗ» «Скринінгове дослідження кардіопротекторної дії препарату Дигідрокверцетин, концентрат для інфузій, в порівнянні з препаратом Корвітин, ліофілізат для розчину для ін'єкцій»).

Трометамол (2-аміно-2- (гідроксиметил) -1,3-пропандіол) має молекулярну масу 121,1. Він представляє собою білий кристалічний порошок або безбарвні кристали з невеликим характерним запахом. Трометамол легко розчинний у воді, його 5% розчин у воді, вільної від CO₂, прозорий і безбарвний, має рН від 10,0 до 11,5 [208].

Трометамол - органічний амінопротонний акцептор, який при парентеральному введенні використовується як лужний агент при лікуванні метаболічного ацидозу. Речовина є слабкою основою (рКа 8,1), може утворювати солі з кислотами, в тому числі з органічними. При рН 7,4, приблизно 70% трометамолу знаходиться в іонізованій (протонованій) формі. Якщо рН знижується (рН <7,4), іонізована фракція препарату збільшується [248]. Тобто, при рН крові, до якого повинен бути наближений рН нового ЛЗ,

протонірується або створює сіль не вся кількість трометамолу, що необхідно враховувати при розробці складу ЛЗ.

L-аргінін за хімічною структурою є (S) -2-аміно-5-гуанідінопентановою кислотою. Це основна амінокислота з двома основними центрами: аміногрупою в α -положенні і гуанідиною в δ -положенні. Гуанідинова група при протонуванні є сильно лужною (pK_a 12,48), знаходиться в протонованій катіонній формі при $pH < 10$ і здатна утворювати множинні водневі зв'язки.

У водному середовищі протон приєднується до гуанідинової групи з утворенням мезомерно-стабілізованого гуанідо-катіону, представленого на рис. 4.2:

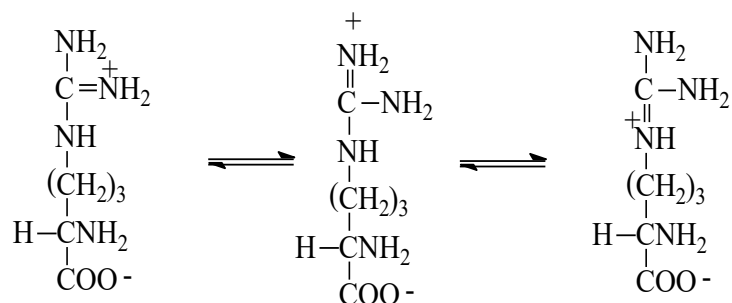


Рис. 4.2 Цвітер-іонні форми L-аргініну.

У кислих та нейтральних середовищах L-аргінін існує переважно як катіон, здатний утворювати сполуки за амінною та гуанідиною групами. У лужному середовищі він існує у вигляді аніону. У сильнополярних розчинниках аргінін існує у вигляді цвітер-іону. Тому L-аргінін розчинний в розведених мінеральних кислотах і може утворювати з ними солі [144].

Меглумін (1-дезоксигуанідин-1-метиламіно) -D-сорбіт) має молекулярну масу 195,2. Він представляє собою білий або майже білий кристалічний порошок. Меглумін легко розчинний у воді, погано розчинний в 96% етанолі. Його 1% розчин у воді, прозорий безбарвний, має pH близько 11. Продукт хімічно стійкий при стандартних зовнішніх умовах.

4.3. Обґрунтування способу одержання розчинів ДГК

Всі ці допоміжні речовини описані в ДФУ і провідних фармакопеях (ВР, USP, ЕР і ін.) [33]. Важливими параметрами реакції, що визначають структури комплексних сполук флавоноїду і розглянутих лужних сполук є рН розчину, використання певного розчинника, розраховане мольне співвідношення допоміжної речовини і флавоноїду. Нами були складені передбачувані реакції утворення комплексних сполук ДГК з трометамолом, L-аргініном і меглуміном при мольних співвідношеннях 1:1 та 1:2.

З урахуванням передбачуваних терапевтичних концентрацій ДГК (1-2%) були розраховані кількості вихідних інгредієнтів для проведення реакцій утворення комплексів, які наведені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Розрахунок кількості вихідних інгредієнтів

Склад	Формула	Кількість, г/100 мл			
		ДГК	Трометамол	L-аргінін	Меглумін
ДГК + Трометамол					
1:1	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₄ H ₁₁ NO ₃	1,0	0,40		
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₄ H ₁₁ NO ₃	2,0	0,80		
1:2	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₄ H ₁₁ NO ₃] ₂	1,0	0,80		
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₄ H ₁₁ NO ₃] ₂	2,0	1,59		
ДГК + Аргінін					
1:1	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	1,0		0,57	
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	2,0		1,15	
1:2	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂] ₂	1,0		1,15	
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂] ₂	2,0		2,29	
ДГК + Меглумін					
1:1	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₇ H ₁₇ NO ₅	1,0			0,64
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · C ₇ H ₁₇ NO ₅	2,0			1,28
1:2	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₇ H ₁₇ NO ₅] ₂	1,0			1,28
	C ₁₅ H ₁₂ O ₇ · [C ₇ H ₁₇ NO ₅] ₂	2,0			2,57

Були проведені експериментальні роботи по одержанню в розчині комплексних сполук ДГК із зазначеними речовинами лужної природи. Результати досліджень представлені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Результати досліджень одержання розчинів ДГК

Сполука/спів- відношення	Режим		рН	Опис
	Темпе- ратура, °С	Трива- лість, хв		
ДГК + Трометамол (1:1)	50	60	-	Розчиняється неповністю, осад
	60	15-20	6,76	Розчиняється повільно, розчин світло жовтого кольору
ДГК + Трометамол (1:2)	50	15-20	7,93	Розчин темно жовтого кольору, при охолодженні з'являється осад
	60	15-20	8,27	Розчин темно жовтого кольору
ДГК + Аргінін (1:1)	50	60	-	Розчиняється повільно, осад
	60	15-20	7,53	Розчин жовтого кольору
ДГК + Аргінін (1:2)	50	15-20	8,73	Розчиняється добре, розчин жовтого кольору
ДГК + Меглумин (1:1)	50	60	-	Розчиняється повільно, при стоянні осад
	60	25-30	6,87	Розчиняється довго, розчин світло жовтого кольору
ДГК + Меглумин (1:2)	50	15-20	7,93	Розчин жовтого кольору
	60	15-20	8,36	Розчин помаранчевого кольору

В ході проведених експериментів було встановлено, що можливе одержання комплексних сполук ДГК з трометамолом, L-аргініном і меглуміном. При цьому встановлено, що для утворення комплексу необхідна підвищена температура, від її величини залежить тривалість процесу. При температурі не вище 50 °С розчини сполук мольного співвідношення 1:1 отримати не вдалося. Такі ж солі були одержані при більш високій температурі та вони не були стабільні, при охолодженні розчину спостерігалось випадання осаду або в процесі зберігання (прогятом 1 міс).

Також були одержані розчини комплексних з'єднань мольного співвідношення 1:2, але виявилось, що температурний режим до 50 °С призводить до нестабільності при зберіганні. У розчинах, отриманих при більш високих температурах, не спостерігалось випадіння осаду, але забарвлення було більш інтенсивним. Крім того, рівень рН в цих розчинах, перевищував рівень рН крові, а також це може впливати на деструкцію зовнішнього шару скла ампул та появи в розчині механічних включень, що неприпустимо для парентеральних ЛЗ. Під час проведення реакцій комплексоутворення нами було відзначено, що при мольному співвідношенні 1:2 були одержані розчини ДГК з лужними агентами при температурі не вище 60 °С з позитивними характеристиками.

На підставі отриманих результатів нами було припущено, що комплексоутворення складних органічних сполук з варіабельністю дисоціації, особливо ДГК, проходить не по одному шляху, а можливе утворення комплексних з'єднань складу 1:1, 1:2, а також і інших з присутністю одномоментно в розчині сполук різного мольного співвідношення. Але було встановлено, що мольне співвідношення ДГК:лужний агент повинно бути більше, ніж 1:1, так як це недостатньо для переведення ДГК в розчин, але повинно не перевищувати 1:2, так як надмірна кількість лужного агента призводить до деструкції ДГК.

Наступні НДР були спрямовані на визначення оптимальної кількості лужних агентів для одержання розчину з рівнем рН, який би забезпечував фізико-хімічну стабільність розчину і був наближений до рН крові.

4.4. Визначення оптимальної кількості лужних агентів для одержання розчину ДГК

Нами були складені передбачувані реакції комплексоутворення ДГК з трометамолом, L- аргініном і меглуміном при мольних співвідношеннях 1:1 і 1:2 з урахуванням терапевтичної концентрації.

Для визначення технологічних меж рН, при яких розчинна форма ДГК була б отримана, але не відбувалася б його деструкція, і які забезпечили б отримання продукту із заданими параметрами по вмісту основної речовини, були виготовлені експериментальні зразки розчинів ДГК + L-аргінін з різними мольними співвідношеннями. Результати контролю і спостережень представлені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

Вибір оптимальних мольних співвідношень ДГК і L-аргініну для одержання розчину

Співвідношення ДГК/ L-аргінін	Показники розчину			
	рН	Прозорість	Колір	Спостереження при зберіганні
1	2	3	4	5
1:1,40	7,23	Осад	Світло- жовтий	-
1:1,60	7,55	Прозорий	Жовтий	Осад у відкритій ємності, в ампулі через 0,5 міс.
1:1,80	7,68	Прозорий	Жовтий	У відкритій ємності колір коричневий, в ампулі без змін 2 міс.

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4	5
1:2,00	8,32	Прозорий	Жовтий	У відкритій ємності колір коричневий, в ампулі без змін 2 міс.
1:2,20	8,92	Прозорий	Помаранчево-коричневий	У відкритій ємності колір темно коричневий, в ампулі без змін 2 міс.

З цих даних видно, що кількість L-аргініну, відповідне мольному співвідношенню ДГК до аргініну 1:1,6 – 1:2,0, дозволяє отримати прозорі розчини жовтого кольору, які не змінювали своїх фізико-хімічних характеристик протягом 2 місяців (термін спостереження). Були також встановлені попередні інтервали рН для отримання розчину. Ми виявили, що після 2 місяців зберігання створюється нова фаза, система стає дисперсною. Аналогічний результат спостерігали автори [71] при вивченні можливості створення нових лікарських форм фітопрепарату на основі ДГК.

Пізніше, автори роботи [52] запропонували такий порядок депротонування: кільце А (7-ОН), кільце В (4'-ОН, 3'-ОН), кільце А (5-ОН), кільце С (3-ОН) (рис. 4.3).

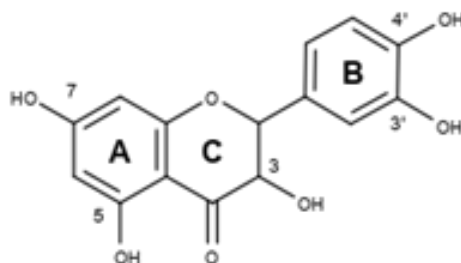


Рис. 4.3 Структурна формула ДГК.

В роботі [224] за допомогою квантово-хімічних розрахунків було показано, що найбільш кислую групою є 4'-ОН, визначені константи рКа

спектрофотометричним і потенціометричним методами. Також вказано, що депротонування молекули ДГК можливо по декільком центрам відразу, ґрунтуючись на невеликій відміні в значеннях відносних енергій Гіббса, тому і інші монодепротоніровані форми одночасно можуть існувати в реальному розчині.

Виходячи з аналізу функціональних груп, присутніх у складі компонентів, припущення про взаємодію з утворенням ковалентних або координаційних зв'язків ми виключили. Очевидно, що нова фаза представляє собою іонний асоціат. Оцінити склад цього іонного асоціата можна при розгляді іонних рівноваг в розчині кожного з компонентів. ДГК є чотирьохосновною слабкою кислотою, тому в водному розчині можливі такі рівноваги:



Для побудови діаграми стану рівноважних форм ДГК від різних значень рН ми скористалися значеннями рКа [238] (рис. 4.4).

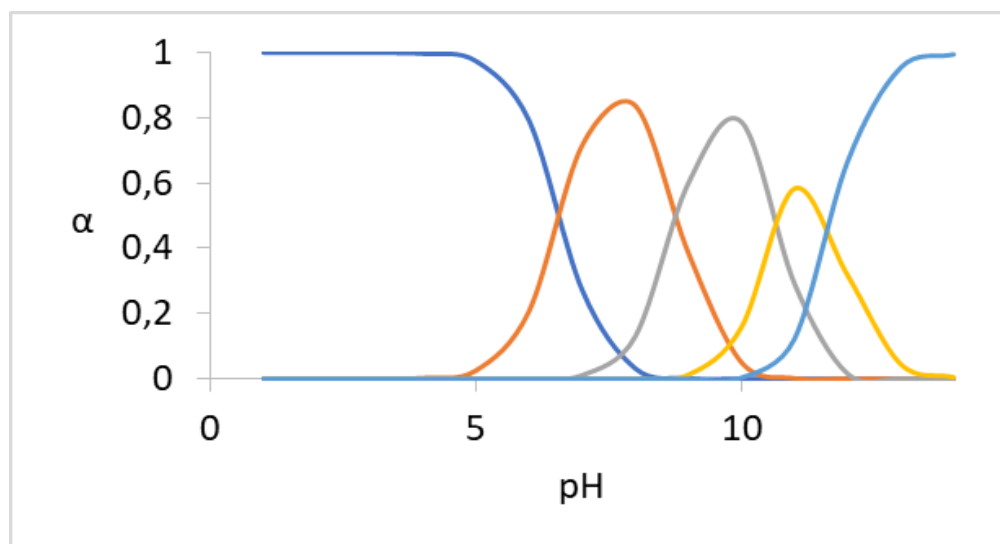


Рис. 4.4 Залежність мольних часток іонів ДГК в розчині від рН середовища

З діаграми 4.5 видно, що в діапазоні значень рН близько 7 в розчині переважають частки в монодепротонізованій форми ($\alpha \approx 0.7$) і частково ($\alpha \approx 0.3$) в неіонізованій формі ДГК. Аналогічну діаграму побудуємо для аргініну.

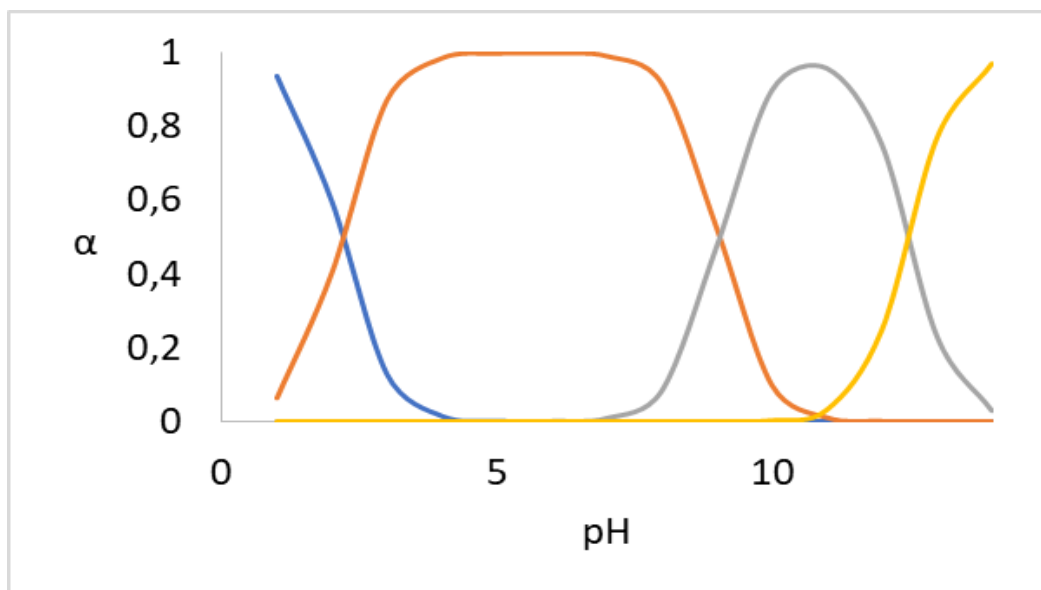
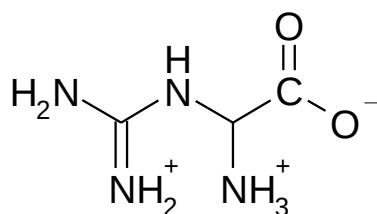


Рис. 4.5. Залежність мольних часток іонів L-аргініну в розчині від рН середовища

L-аргінін у вказаному діапазоні рН знаходиться у вигляді частки з сумарним зарядом +1:



Очевидно, що нова фаза утворюється в результаті взаємодії переважаючих форм в розчині при заданому значенні рН. Для виключення утворення нової фази і отримання стабільних розчинів нами було запропоновано додавання до розчину високомолекулярних з'єднань.

4.5. Вибір допоміжних речовин для одержання стабільного розчину ДГК

Для одержання стабільних розчинів ДГК до розчину додавали

високомолекулярні з'єднання, такі як: полівінілпіролідон (ПВП) і поліетиленоксид-400 (ПЕО-400). Застосування ПЕО-400 краще, ніж ПЕО-300, так як його здатність збільшувати розчинність і швидкість розчинення лікарських речовин у водних розчинах вище, і при внутрішньовенному введенні в нього нижчі показники токсичності [33]. У розчинах, приготовлених з використанням ПЕО-400 до 10 % не спостерігалась більша стабільність, ніж без нього або при спільній присутності з ПВП. А при використанні більше 10% ПЕО-400 створювана система виявлялася нестійкою, а в ряді випадків в розчинах спостерігалася поява суспензії або опалесценції. Тому додавання ПЕО-400 до розчину виявилось нераціональним.

Для вирішення питання про необхідність ведення до складу розчину іншого солюбілізатора або комплексоутворювача були напрацьовані зразки розчинів з ПВП (К-15), ПВП (К-17) в концентраціях від 2 до 7% і без нього. Позитивні результати за показниками рН розчину, зовнішній вигляд були одержані при додаванні 5% ПВП.

У хімічному відношенні ПВП є досить стійким з'єднанням. А його здатність зв'язувати багато органічних речовин, зокрема флавоноїди і поліфенольні сполуки, дозволяє використовувати його в фармації та медицині [114, 238]. Молекули ПВП орієнтуються щодо агрегатів за рахунок утворення водневих зв'язків між ними і таким чином, запобігають осадженню агрегатів.

Відомо, що високомолекулярні з'єднання стабілізують дисперсні системи, утворюючи міцели [219]. Таким чином, ПВП стабілізує іонний асоціат за рахунок гідрофільно-гідрофобної взаємодії, тому і був рекомендований нами в якості допоміжної речовини. Одержання стабільного розчинного комплексу ДГК і L-аргініну краще з використанням високомолекулярних сполук (ВМС).

Для спостереження за стабільністю були напрацьовані зразки розчину ДГК з L- аргініном, меглуміном, трометамолом в мольному співвідношенні

1:1,6 - 1:1,8 і ПВП (К-17) в концентрації 1% - 5% та без нього та розлиті в ампули по 5 мл.

Зразки розчинів контролювали згідно з розробленою специфікацією проекту методів контролю якості (МКЯ) за показниками: «рН», «Прозорість», «Кольоровість». Не було відзначено погіршення якості розчину через 6 місяців зберігання при використанні ПВП в концентраціях 4% - 5 %. Дані представлені в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Вплив ПВП на стабільність розчину ДГК з L- аргініном при зберіганні

Вміст ПВП (К-17), %	рН		Прозорість		Кольоровість		Тер- мін збері- гання
	Вихідне	Кінцеве	Вихідне	Кінцеве	Вихідне	Кінцеве	
-			Осад	Осад	Жовтий (осад)	-	-
1			Завись	Осад	Жовтий (осад)	-	-
3	7,3	6,4	Прозор.	Завись	Жовтий	Жовтий (осад)	3 міс.
4	7,45	7,43	Прозор.	Прозор.	Жовтий	Жовтий	6 міс.
5	7,41	7,38	Прозор.	Прозор.	Жовтий	Жовтий	6 міс.
6	7,37	7,32	Прозор.	Прозор.	Жовтий	Жовтий	6 міс.

Примітка. n=5.

При створенні ін'єкційної лікарської форми необхідно враховувати його стабільність у процесі зберігання.

Нами було встановлено, що після зберігання протягом 6 місяців при розкритті ампул при контакті з повітрям розчин протягом 10-15 хвилин

набував коричневе забарвлення. Це недопустимо для ін'єкційної лікарської форми та може бути пов'язано з окисненням розчину киснем повітря.

Гідроксильні групи флавоноїдів відрізняються здібністю до окиснення при дії різних оксидантів. Найлегше піддається окисненню катехильна група кільця В, утворюючи семіхінонові аніон-радикали, що перетворюються потім на орто-хінони. Стабілізація розчинів, що легко окиснюються здійснюється по таких напрямках:

- введення антиоксидантів прямої і непрямой дії;
- створення оптимальних меж рН;
- зменшення вмісту кисню в розчиннику і над розчином (насичення розчину, наповнення ампул в струмі інертного газу).

Механізм стабілізуючої дії антиоксидантів пов'язаний із їх здатністю окислюватись значно швидше, ніж діюча речовина, яку необхідно стабілізувати. Антиоксидант, швидко реагуючи з киснем, що знаходиться в розчині та в вільному просторі ампули, перешкоджає окисненню діючої речовини. У фармацевтичній практиці використовуються антиоксиданти прямої та непрямой дії. До прямих антиоксидантів відносяться сильні відновники, які проявляють більш високу здатність до окиснення, ніж діюча субстанція. До непрямих антиоксидантів відносяться речовини, які зв'язують практично в недісоційовані з'єднання катіони металів, що присутні в розчині як домішки з лікарської сировини [219].

Тому подальші дослідження були направлені на вибір антиоксиданту та подальші дослідження стабільності розчину ДГК.

4.6. Вибір антиоксидантів для стабілізації розчину ДГК

При виборі антиоксидантів необхідно враховувати: нешкідливість у застосовуваних дозах, як самих антиоксидантів так і продуктів їх метаболізму; ефективність при мінімальних концентраціях; сумісність з лікарською композицією та добру розчинність.

Антиоксиданти в даному випадку вибирали з ряду: натрію бісульфіт, натрію метабісульфіт, кислота аскорбінова (прямої дії), натрію едетат (непрямої дії).

В якості антиоксиданта в ін'єкційних препаратах закордонних країн, таких як Бельгія, Угорщина, Австрія та ін., широко використовується натрію метабісульфіт у концентрації 0,05-0,15% [124]. Згідно загальної статті «Лікарські засоби для парентерального застосування» [33], вказано, що кількість натрію метабісульфіту не має перевищувати 0,2 %.

Нами були проведені дослідження з визначення оптимальних концентрацій натрію метабісульфіту в комбінованому розчині ДГК на модельних розчинах. Результати досліджень представлені в таблиці 4.6

Таблиця 4.6

Визначення оптимальних концентрацій антиоксиданту натрію метабісульфіту в ін'єкційному розчині ДГК при розкритті ампули

Антиоксидант, %	Прозорість розчину	Кольоровість розчину	pH	Зміна кольору розчину/хвилини	Вміст ДГК в розчині, г/мл
0	Прозорий	Жовтий	7,44	Коричневий /7	-
0,05	Прозорий	Жовтий	7,44	Помаранчевий /10	9,012
0,08	Прозорий	Жовтий	7,40	Помаранчевий /10	9,016
0,12	Прозорий	Жовтий	7,40	Світло-помаранчевий /10	9,123
0,15	Прозорий	Жовтий	7,42	Жовтий /10-15	9,650
0,18	Прозорий	Жовтий	7,38	Жовтий /10-80	9,987
0,20	Прозорий	Жовтий	7,40	Жовтий /10-150	9,984

Примітки:

1. n=5.

2. вміст ДГК в 1 мл препарату повинен бути: від 9,50 мг/мл до 10,50 мг/мл.

Проведені експериментальні дослідження свідчать, що збільшення концентрації антиоксиданту до 0,2% сприяє стабільності розчину ДГК при розкритті ампули протягом від 10-150 хвилин і більше. При додаванні натрію метабісульфіту в концентрації від 0,15 % до 0,20 % було встановлено, що інтенсивність забарвлення розчину не змінюється, кількісний вміст ДГК знаходиться в допустимих межах. Тому можна вважати 0,18 % натрію метабісульфіту є оптимальною концентрацією антиоксиданту для стабілізації комбінованого розчину ДГК.

Також було проведено дослідження можливості використання в якості антиоксиданту кислоти аскорбінової, механізм дії якої ґрунтується на тому що її окислювально-відновний потенціал нижче, ніж ДГК. Таким чином, окиснення відновника, на яке витрачається кисень, що знаходиться в розчині, попереджає окиснення діючої речовини. Було напрацьовано 3 серії розчину ДГК з кількістю аскорбінової кислоти: 0,05%, 0,10% та 0,15 %. Використання аскорбінової кислоти в якості антиоксиданта не дало позитивних результатів, оскільки, при приготуванні розчину спостерігались різкі зміни рН розчину, що негативно впливало на технологічні параметри приготування розчину ДГК. При цьому спостерігалась зміна кольору розчину на більш інтенсивний жовтий.

Як було зазначено вище, флавоноїди легко піддаються окисненню в водних розчинах. Однією з причин їх окиснення можуть бути також слідові (каталітичні) кількості іонів важких металів. Джерелами попадання важких металів в розчин можуть бути домішки в самій субстанції ДГК, допоміжних речовинах та з обладнання, яке контактує з розчином на стадіях технологічного процесу. Тому для більш надійного захисту розчину ДГК від окислення були проведені дослідження по вибору кількості антиоксиданту, здатного створювати стійкі комплексні сполуки з іонами важких металів. Таким стабілізатором, що широко застосовується в інекційних розчинах є динатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (натрію едетат, трилон Б).

Крім того, натрію едетат відноситься до групи непрямих антиоксидантів, що підсилюють дію прямих антиоксидантів [88].

Нами досліджені модельні розчину ДГК з різним вмістом натрію едетату при зберіганні. Результати досліджень представлені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Визначення оптимальних концентрацій стабілізатора натрію едетату в ін'єкційному розчині ДГК у процесі зберігання (24 міс.)

Кількість натрію едетату, %	Прозорість (прозорий)	Кольоровість (жовтий)	pH (6,8 -7,8)	Супровідні домішки (одинична, не більше 4,0%, сума не більше 5,0%)	Кількісний вміст ДГК, г/мл (від 9,50 мг/мл до 10,50 мг/мл)
0,05	Прозорий	Жовтий	7,35	2,64/2,95	9,550
0,08	Прозорий	Жовтий	7,38	2,58/2,77	9,684
0,10	Прозорий	Жовтий	7,38	1,23/1,28	9,985
0,12	Прозорий	Жовтий	7,42	1,25/1,31	9,984
0,15	Прозорий	Жовтий	7,38	1,23/1,32	9,985

Примітка. n=5.

При вивченні модельних сумішей розчину ДГК, що містили натрію едетат у кількості від 0,05 до 0,15 % встановлено, що оптимальною є концентрація натрію едетату 0,10 %. При вмісті натрію едетату в розчині до 0,10 % у процесі зберігання протягом 24 місяців спостерігалось зростання супровідних домішок та незначне зменшення кількісного вмісту ДГК. Тому для стабільності ін'єкційного розчину ДГК протягом терміну зберігання (24 місяці) рекомендовано додавання 0,1 % натрію едетату.

Таким чином, в результаті вивчення літературних даних і експериментальної роботи, розроблений якісний і кількісний склад

лікарського засобу «Дигідрокверцетин, концентрат для розчину для інфузій 10 мг/ мл, по 5 мл в ампулах». Разова доза 5 мл, до складу препарату входить: діюча речовина ДГК – 50,0 мг; допоміжні речовини: L-Аргінін, ПВП, динатрію едетат, натрію метабісульфіт.

4.7. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу оральних розчинів ДГК

Як уже було відмічено, що кардіологічні і неврологічні захворювання на сьогоднішній день займають перше місце по причинах смертності у світі і, особливо, в Україні. В патогенезі багатьох захворювань важливу роль відіграють зміни мікроциркуляції крові. Тому розробка нових лікувально-профілактичних засобів, які сприяють покращенню мікроциркуляції крові та захищають судини і капіляри від пошкоджень є актуальною на даний час. До числа таких засобів відносяться природні БАР - біофлавоноїди, а особливо ДГК.

Широта і вираженість фармакологічних властивостей біофлавоноїдів обумовлені, перш за все, їх блокуючим впливом на ключові ланки розвитку різних патологічних процесів, в тому числі на прискорення вільно-радикального окислення ліпідів мембран і порушення цілісності стінки капілярів [31, 60].

Враховуючи той факт, що ДГК є малотоксичною речовиною та проявляє високу ефективність в профілактиці та лікуванні важких серцево-судинних захворювань ми проводили дослідження з розробки складу та технології дієтичних добавок у вигляді оральних розчинів.

Нами був проведений теоретично-експериментальний пошук розчинників для одержання крапель для сублінгвального прийому на основі біофлавоноїду ДГК. Для контролю показників якості вихідної субстанції, розчинників, а також крапель для сублінгвального прийому,

використовувалися фармакопейні методи вказані в розділі 2

На сьогоднішній день відомі дієтичні добавки до складу яких входить біофлавоноїд ДГК. Це здебільшого таблетовані та капсульовані форми. Сублінгвальна форма прийому ДГК є ефективним методом доставки діючої речовини в кров, що дозволяє підвищити біологічну доступність, значно підвищити відсоток засвоєння діючої речовини та досягти контрольованого дозування для профілактичних і лікувальних цілей.

Чистота сировини ДГК впливає на антиоксидантну активність, а також на вміст сторонніх домішок. Основні показники, які важливі для розробки складу орального розчину, в субстанції ДГК, яку використовували в своїх дослідженнях були такими: вміст основної речовини 98,3 %, волога 4,2.

Створення рідких форм ДГК є складним процесом у зв'язку з його низькою розчинністю та нестабільністю в водних розчинах.

4.7.1. Визначення розчинності ДГК для розробки складу оральних розчинів

Першим етапом наших досліджень з розробки складу оральних розчинів було вивчення розчинності субстанції ДГК з різними прийнятними для орального застосування розчинниками та їх сумішами.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що розчинність ДГК у воді при різних температурах становить: при 20°C в середньому 0,1 %; при 40°C - 0,3 %; при 60°C - 1,2 %; при 90°C - 3,6 %. Дані представлені на рис. 4.5.

З рис. 4.6 видно, що такої концентрації ДГК недостатньо з фармакологічних даних. По проведеним пошуковим фармакологічним дослідженням концентрація оральних розчинів повинна бути від 10 % до 20 % ДГК. Тому в подальших дослідженнях застосовували неводні розчинники та їх суміші з водою очищеною.

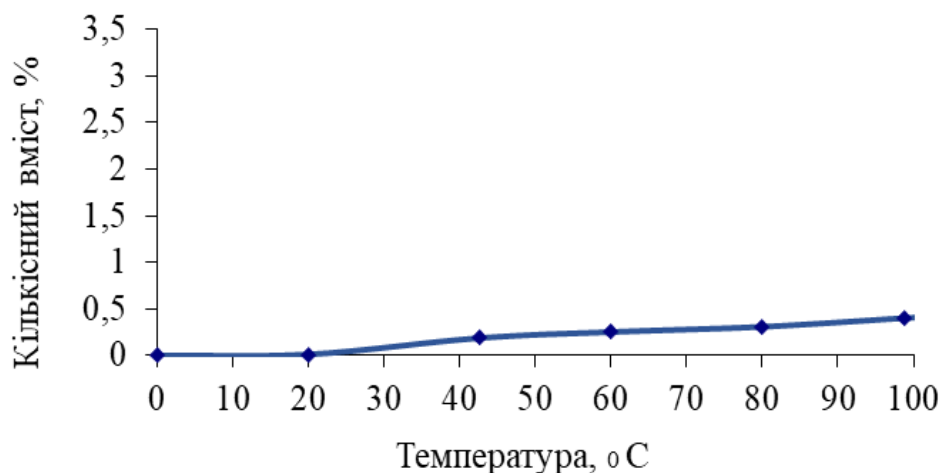


Рис. 4.6. Залежність розчинності ДГК в водному розчині від температури.

Відомо, що субстанція ДГК добре розчинна в 96 % етанолі. Його розчинність в водно-спиртових сумішах зростає від 0,1 % до 18 %, але такі розчини непригодні для орального застосування.

Була досліджена розчинність субстанції ДГК в неводних розчинниках, таких як: гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленоксиди (ПЕГ-300 та ПЕГ-400), твіни та їх суміші. В ході досліджень було встановлено, що розчини ДГК в суміші вказаних розчинників при терміні зберігання (30 діб) не відповідають вимогам нормативної документації за показником «Кількісній вміст», «Прозорість», «Кольоровість».

При вивченні стабільності 10 % та 20 % розчинів ДГК позитивні результати були отримані при використанні в якості розчинників пропіленгліколю та гліцерину фармакопейної якості. Тому для подальших досліджень в якості розчинників було обрано пропіленгліколь та гліцерин.

4.7.2. Розробка та стандартизація технології одержання розчинів ДГК

Наступні дослідження були направлені на розробку та стандартизацію технології одержання розчинів ДГК на обраних неводних розчинниках.

З огляду на властивості ДГК, нами вивчалися кілька температурних режимів розчинення з підбором тривалості й швидкості перемішування, а також послідовність введення субстанції. Було встановлено, що швидкість розчинення ДГК збільшується при нагріванні розчинника, в'язкість розчину зменшується, що позитивно впливає на сам процес розчинення.

Таблиця 4.8

Визначення оптимальних умов приготування 10 % розчину ДГК на гліцерині

Температура розчину, °C	Час розчинення, хв.	Прозорість розчину	Кольоровість розчину
30	60-70	Осад	Каламутний з жовтим відтінком
40	60-70	Осад	Каламутний з жовтим відтінком
50	50-60	Прозорий	Жовтий
60	50-55	Прозорий	Жовтий
70	50-55	Прозорий	Жовтий
80	40-50	Прозорий	Жовтий з помаранчевим відтінком
90	20-30	Прозорий	Жовтий з помаранчевим відтінком

Як видно з даних таблиці 4.8., оптимальними умовами одержання 10 % розчину ДГК в гліцерині є температура (60-70)⁰C та час розчинення від 50 до 55 хв. За цих умов досягається повнота розчинення субстанції. Такі температурні і часові умови не створюють критичних ситуацій для субстанції ДГК та забезпечують її стабільність у розчині.

Таким чином, на основі проведених досліджень обрано оптимальні умови приготування розчину, визначена в'язкість приготовленого 10 % розчину ДГК на гліцерині, яка при 60⁰С складала 68,3 мПа*с. Розчин представляв собою в'язку рідину жовтого кольору.

При приготування 10 % розчину ДГК на пропіленгліколі, було встановлено, що в тих же умовах приготування розчину ДГК на гліцерині можна отримати розчини вищої концентрації. Тому досліджувалися розчини з концентрацією ДГК від 10 % до 30 %.

В результаті проведених науково-дослідних робіт була обрана оптимальна концентрація – 20 % розчин ДГК на пропіленгліколі. Встановлений чітко регламентований температурний і часовий режими розчинення ДГК, а також порядок введення його у розчин. Введення субстанції у розчин проводити невеликими порціями. Температура розчинення ДГК в пропіленгліколі складає 50-55⁰С, при максимальних обертах мішалки від 150 до 200 хв⁻¹. Загальний час приготування 20 % розчину ДГК в пропіленгліколі становив 45-50 хв. В'язкість отриманого 20 % розчину ДГК в пропіленгліколі при температурі 50 ⁰С – 38,90 мПа*с. Розчин представляє собою мало в'язку рідину жовтого кольору.

4.7.3. Вибір оптимального фільтруючого матеріалу для очищення оральних розчинів ДГК

Важливим моментом у технології приготування сублінгвальних розчинів є фільтрація розчину, за допомогою якої досягається максимальне видалення механічних часток з розчину. Приймаючи до уваги, що розчини ДГК були в'язкими, нами спочатку була вивчена динамічна в'язкість неводних розчинників.

Досліджували динамічну в'язкість вихідних розчинників при різній температурі, оскільки цей показник є важливим при приготуванні розчинів та фільтрації. Визначення в'язкості капілярним віскозиметром зводиться до

вимірювання часу протікання відомої кількості рідини крізь круглі капіляри при заданому перепаді тиску. Дані представлені в таблиці 4.9.

Таблиця 4.9

**Дослідження динамічної в'язкості вихідних розчинників
віскозиметром**

Показники	Пропіленгліколь			Гліцерин		
Зовнішній вигляд	Злегка в'язка прозора рідина			Дуже в'язка прозора рідина		
Густина, 20 °С, г/см ³	1,040			1,260		
Динамічна в'язкість, мПа*с = сантипуаз / температура, °С	58/20	48/25	46/30	1245/20	934/25	350/30
	42/40	39/50	35/60	330/40	200/50	99/60
	32/70	28/80		58/70	41/80	

Була вивчена можливість використання різних типів фільтруючих матеріалів з розміром пор 5 мкм та їх вплив на якість розчинів, оскільки розчини приготовлені на неводних розчинниках.

Таблиця 4.10

**Вплив фільтруючих матеріалів на показники якості
оральних розчинів ДГК**

Показники	Фільтруючий матеріал			
Тривалість спостереження, доба	Контрольний розчин	капрон	нейлон 66	поліефірсульфон
1	2	3	4	5
20 % розчин ДГК на пропіленгліколі				
<i>Прозорість (ДФУ, 2.2.1)</i>				
1,2,3	прозорий	прозорий	прозорий	прозорий

Продовж. табл. 4.10

1	2	3	4	5
Грубі механічні частки, в т.ч. частки фільтру, що відшарувалися				
1,2,3	відсутність	відсутність	відсутність	відсутність
Кількісний вміст ДГК (180-220 мг/мл)				
1	205,26	205,20	205,23	205,23
2	205,27	205,26	205,27	205,26
3	215,72	215,71	215,70	215,70
10 % розчин ДГК на гліцерині				
Прозорість (ДФУ, 2.2.1)				
1,2,3	прозорий	прозорий	прозорий	прозорий
Грубі механічні частки, в т.ч. частки фільтру, що відшарувалися				
1,2,3	відсутність	відсутність	відсутність	відсутність
Кількісний вміст ДГК (90-110 мг/мл)				
1	99,54	99,50	99,51	99,53
2	100,27	100,26	100,27	100,26
3	100,52	100,51	100,50	100,50

На підставі отриманих результатів, представлених у таблиці 4.10, був зроблений вибір оптимального режиму фільтрації й придатних до використання фільтруючих матеріалів.

Для одержання ін'єкційного розчину без механічних включень необхідно підібрати відповідний розмір пор фільтруючого матеріалу і послідовність фільтрації розчину через фільтри з різним розміром пор. При виробництві ін'єкційних розчинів фільтрацію проводять у два етапи: попередня і фінішна фільтрація. У першому випадку до фільтрації на операції попереднього фільтрування можна встановлювати менш тверді вимоги до розміру пор фільтра. При використанні попередньої фільтрації зменшується навантаження на основний фільтр і збільшується ефективність

фільтрації.

Таким чином, відповідно до проведених досліджень, змін показників якості в розчинах ДГК не відбувалося. Отримані дані дозволили зробити висновок про сумісність 20 % розчину ДГК на пропіленгліколі та 10 % розчину на гліцерині з фільтруючими матеріалами, які застосовують фармацевтичні фірми України.

Крім того, використання фільтруючих мембран у комбінації 0,45+0,22 мкм не тільки забезпечує необхідну чистоту розчину, але і збільшує швидкість фільтрації.

4.7.4 Дослідження з вибору первинного пакування та його вплив на показники якості розчинів

Однією з необхідних умов створення сублінгвальних розчинів є вивчення впливу фізико-хімічних властивостей первинного пакування на показники якості розчинів ДГК.

Нами були проведені дослідження стабільності розчинів, поміщених у відповідне первинне пакування, що використовується фармацевтичними фірмами України. Первинним пакуванням для розчинів у вигляді крапель є флакони зі скла медичного марки УСП-1 з кришками крапельницями та пластмасові збірні контейнери Фк-15, місткістю 10 та 15 мл з поліетилену марки LDPE (поліетилен низької щільності) Purell 3020D, виробництва ТОВ Фарммаш, Україна згідно ТУ У 22.2-30518985-004:2012. Флакон закривається пробкою-крапельницею Фк1.2 (А) та кришкою тип Фк1 з контролем першого відкриття по ТУ У 25.2-30518985-001:2011.

При вивченні стабільності розчинів ДГК було зроблено висновок, що розчини залишались стабільними в обох видах первинного пакування на протязі 24 місяців спостереження. Оскільки розчини є в'язкими, то для більш зручного дозування при прийомі розчинів перевагу було віддано

полімерному пакуванню, більш зручному для споживача. Рекомендований термін придатності розчинів – 24 місяці в темному місці.

Висновки до розділу 4

1. Досліджені фізико-хімічні та технологічні властивості дигідрокверцетину, які впливають на технологію приготування ін'єкційних розчинів.

2. Обрано допоміжні речовини, які забезпечують одержання розчину важкорозчинної субстанції дигідрокверцетину у воді, а також забезпечують оптимальні межі рН розчину та обґрунтована їх кількість.

3. Теоретично розрахована й експериментально підібрана кількість лужного агенту, що дозволяє одержати стабільний розчин.

4. Вивчено можливість і доцільність використання антиоксидантів прямої і непрямой дії для запобігання процесів окиснення діючої речовини.

5. На основі вивчення фізико-хімічних і технологічних властивостей субстанції високоочищеного дигідрокверцетину і допоміжних речовин теоретично обґрунтований і експериментально підтверджений раціональний склад парентерального лікарського засобу.

6. Розроблено склад та технології одержання неводних розчинів дигідрокверцетина в формі крапель для сублінгвального прийому, які зареєстровані в Україні як дієтичні добавки і випускаються під торговими марками «ДГК- Р» та «ДГК -G».

Результати експериментальних досліджень, що містяться в даному розділі, наведено в таких публікаціях:

1. Бобокало С. В., Алмакаева Л. Г. Разработка способа получения раствора дигидрокверцетина. *International Trends in Science and Technology:*

International scientific conference «World science», Warsaw. Poland. 17 October. RS Global S. z O.O., Warsaw. Poland. 2017. Vol. 5. С. 70-74.

2. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Розробка складу парентерального розчину високочистого дигідрокверцетину. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. І міжнародна науково-практична конференція, Харків 5 квітня 2018 р. Харків, НФаУ, 2018. С. 22-23.

3. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Перспективи створення дієтичних добавок антиоксидантної і капіляропротекторної дії на основі високочистого біофлавоноїда дигідрокверцетина. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*: зб. наук. пр. 2016 р. Харків. С. 90-93.

4. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Особливості розробки складу ін'єкційного препарату на основі дигідрокверцетину. *Науковий підхід до сфери практичної косметології: актуальні питання й тренди*: мат. міжнародна науково-практична конференція, Харків, 11 березня 2020 р. Харків, 2020. С. 223.

5. Bobokalo S. V., Snehyrova D. V., Almakaieva L. G . Methods for creating stable aqueous solutions from differently soluble substanties. *Innovative development of science and education*. Abstracts of the 4th International scientific and practical conference. ISGT Publishing House. Athens, Greece. 2020. P. 84-86.

6. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Староверов В. М. Бєгунова Н. В. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 117389 України / № а 2016 07155; заявл. 01.07.2016; опубл. 25.07.2018, Бюл. № 14.

7. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Староверов В. М. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 118075 України / № а 2018 03421; заявл. 01.07.2016; опубл. 12.11.2018, Бюл. № 21. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА І СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО РОЗЧИНУ ДГК

5.1. Вивчення впливу технологічних параметрів приготування розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg»

При розробці технології одержання парентеральних розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» визначали оптимальні технологічні параметри одержання стабільних ЛФ. Метою цих досліджень було досягнення стабільності як хімічної, так і мікробіологічної. Хімічна стабільність розчину характеризується незмінністю його фізико-хімічних властивостей і обумовлена стійкістю діючих речовин до окиснення, гідролітичного розкладання та інших деструктивних процесів. Мікробіологічна стабільність передбачає збереження стерильності препарату при зберіганні.

5.1.1. Вивчення впливу порядку введення компонентів у розчин, часового і температурного режимів на стабільність ЛЗ

Температурний і часовий режими приготування та порядок введення компонентів у розчин, особливо для багатокomпонентних розчинів, є важливими для його стабільності.

Парентеральні розчини «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» представляють собою складну систему, яка складається з діючих і допоміжних речовин. Всі речовини знаходяться в розчині у вигляді іонів, молекул, комплексних сполук, здатних сольватуватися, дисоціювати.

При приготуванні парентеральних розчинів враховували фізико-хімічні і технологічні властивості допоміжних речовин (змочуваність, час розчинення). Слід зазначити, що натрію метабісульфіт, динатрію едетат, ПВП добре змочуються та розчиняються.

Для вибору способу приготування розчину «ДГК-Arg» було напрацьовано по дві серії розчину в ампулах по 5 мл (всього чотири серії, по дві серії за двома способами приготування). Був зроблений перерахунок вихідних інгредієнтів з урахуванням кількісного вмісту основної речовини та вологи на серію. Дані представлені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Розрахунок вихідних інгредієнтів на серію

Найменування вихідної сировини	Вміст основної речовини та води, %	Вміст в 1 л розчину, г	Кількість на серію, г	
			В 100 % численні	Фактична
Діюча речовина:				
ДГК, с. 100717	99,88; вол. 4,22	10,00	5,00	5,227
Допоміжні речовини:				
L-Аргінін, с. 151021	99,7; вол. 0,2	9,45	4,725	4,748
ПВП 8000; с. A0307393	вол. 2,1	50,00	25,00	25,536
Динатрію едетат с. 20111020	98,5	1,00	0,50	0,508
Натрію метабісульфіт с. 1K001831	99, 1	2,00	1,0	1,009
Вода для ін'єкцій		до 1,0 л	до 500мл	до500мл

Примітка. n=5.

Згідно з першим способом приготування розчину «ДГК-Arg» спочатку у воді для ін'єкцій розчиняють розраховану кількість натрію метабісульфіту та динатрію едетату при температурі 45-50 °С, перемішують до розчинення, потім додають ПВП 8000, перемішують до повного розчинення, далі додають ДГК та L-аргінін, перемішують до повного розчинення компонентів та

отримання жовтого прозорого розчину, рН розчину 7,0-7,5. Дані проведеного експерименту представлені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Приготування розчину «ДГК-Arg» в амулах по 5 мл за першим способом

Компонентний склад розчину, г (мл)	Режим приготування		
	Температура, °C	Тривалість перемішування, хв.	Швидкість перемішування, об./хв.
Вода для ін'єкцій	(50±5) °C	10-15	100-200
Вода для ін'єкцій Динатрію едетат Натрію метабісульфіт ПВП 8000	(50±5) °C	5-10	100-200
Вода для ін'єкцій Динатрію едетат Натрію метабісульфіт ПВП 8000 ДГК L-Аргінін	(50±5) °C	15-20	100-200
Вода для ін'єкцій Динатрію едетат Натрію метабісульфіт ПВП 8000 ДГК L-Аргінін Вода для ін'єкцій до 500 мл	(20±5) °C	5-10	100-200

Примітка. n=5.

Згідно з другим способом: у воді для ін'єкцій при температурі 50-60 °C розчиняють розраховану кількість L-аргініну і ДГК, при постійній підтримці

рівня рН розчину 7,0-7,5, потім розчин охолоджують до температури 40-45⁰С, додають ПВП і стабілізатори - натрію метабісульфіт, динатрію едетат і пермішують до повного розчинення інгредієнтів та отримання жовтого прозорого розчину. Дані проведеного експерименту представлені в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Приготування розчину «ДГК-Arg» в амулах по 5 мл за другим способом

Компонентний склад розчину, г (мл)	Режим приготування		
	Температура, °С	Тривалість перемішування, хв.	Швидкість перемішування, об./хв.
Вода для ін'єкцій ДГК L-Аргінін	(55±5) °С	15-20	100-200
Вода для ін'єкцій ДГК L-Аргінін ПВП 8000	(50±5) °С	40--50	100-200
Вода для ін'єкцій ДГК L-Аргінін ПВП 8000 Динатрію едетат Натрію метабісульфіт	(50±5) °С	10-15	100-200
ДГК L-Аргінін ПВП 8000 Динатрію едетат Натрію метабісульфіт Вода для ін'єкцій до 500 мл	(20±5) °С	5-10	100-200

Примітка. n=5.

Паралельно відпрацьовувалися технологічні параметри, в тому числі температурний і часовий режими, тривалість і швидкість перемішування і т.п. Проведено порівняння результатів якісного і кількісного аналізу розчинів, отриманих за двома способами.

Серії препарату, отримані за двома способам, відповідали за показниками якості проекту МКЯ. Результати представлені в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4

**Результати контролю розчину «ДГК-Arg» приготованого
за двома способами**

Показники	Розчин приготований		Метод контролю
	спосіб I	спосіб II	
Опис (Прозора рідина жовтого кольору)	Прозора рідина жовтого кольору	Прозора рідина жовтого кольору	Візуальний
pH (6,8-7,8)	7,20	7,15	ДФУ 2.2.3
Прозорість. (Має бути прозорим)	Прозорий	Прозорий	ДФУ 2.2.1
Супровідні домішки (вміст одиничної не більше 4,0 %, сума - не більше 5,0 %.)	0,72	0,73	ДФУ 2.2.29
Кількісний вміст, мг/мл:			
ДГК: (9,50- 10,50)	10,30	10,10	ДФУ 2.2.29
Натрію метабісульфіт (від 1,50 до 2,15)	2,0	1,98	ДФУ 2.2.29

Примітка. n=5.

Обрано порядок введення субстанцій в розчин при температурі 45-50 °С, в воду для ін'єкцій поміщають в першу чергу антиоксиданти – натрію

метабісульфіт і динатрію едетат, після повного розчинення стабілізаторів додають ПВП 8000, потім додають ДГК та L-аргінін при температурі 45-55 °С, при рівні рН розчину 7,0-7,5. При приготуванні розчину за другим способом значно збільшується час приготування, тому нами рекомендований перший спосіб приготування розчину «ДГК-Arg». Аналогічні дані були отримані при приготуванні розчину з меглуміном «ДГК-Meg».

5.2 Вибір оптимального фільтруючого матеріалу для парентеральних розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg»

Однією з вимог, що пред'являються до парентеральних розчинів, є відсутність механічних включень. Методи контролю вмісту механічних включень у розчинах для ін'єкцій можна розділити на дві групи: виявлення видимих і невидимих неозброєним оком частинок. Прийнято вважати, що до невидимих частинок належать частинки розміром менше 50 мкм [75].

Механічні включення (МВ) ін'єкційних та інфузійних лікарських засобів - це сторонні рухомі нерозчинні частинки, за винятком бульбашок газу, випадково присутніх у розчинах [75].

Для видалення часток використовується метод фільтрації, що забезпечує реалізацію таких важливих вимог, як відсутність механічних включень, стерильність.

Фільтри, які застосовують у виробництві парентеральних розчинів, мають відповідати таким вимогам:

- затримувати частки з рідин, що фільтруються;
- від фільтра не повинні відокремлюватися в розчин механічні частки матеріалу фільтра;
- затримувати мікроорганізми і витримувати теплову стерилізацію (для стерилізуючої фільтрації);
- не набухати при контакті з рідинами, що фільтруються;
- не впливати на хімічний склад, величину рН та електричну

провідність фільтрату;

- фільтри повинні мати невеликий гідравлічний опір і не змінювати істотно своїх характеристик при підвищенні різниці тисків до заданої максимальної величини. У межах цього діапазону вони не повинні бути чутливі до гідравлічних ударів.

Фармацевтичною промисловістю України використовуються фільтруючі мембрани, що виготовляються з різних матеріалів. Найбільш використовувані в фармацевтичній промисловості представлені в табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Мембрани, що використовуються для фільтрації ПЛЗ

Тип мембрани, виробник	Матеріал фільтра	Розмір пор, мкм	Продук- тивність, мл/хв/см²	Робо- чий інтер- вал рН	Макс. темпера- тура стериліза- ції, °С
«Ultipor N 66», «Pall», (Німеччина)	поліамідна смола нейлон	1,2–0,2	40 - 10	3-10	125
Propor Pes, «Domnick Hanter», (Англія)	поліефірсульф он	0,45– 0,2	300 – 22 70 - 40	1-10	121 130
«МІФІЛ -1-2» (Беларусь)	капрон	5,0–0,2	400 – 13	1-13	121
«Millipore (США)	нітраті ацетат целюлози	8,0–0,2	620 - 18	1-12	121

Примітка. n=5.

Усі приведені типи фільтрів характеризуються гідрофільністю, високою хімічною стійкістю до дії модельного середовища і низьким рівнем

екстрактивних речовин, високою продуктивністю, надійно знижують контамінацію розчину механічними частками і мікроорганізмами заданого розміру.

Вивчення літературних даних допомагає правильно орієнтуватися в різноманітті мембранних фільтрів, що використовуються у виробництві ПЛЗ, але не може служити достатньою підставою для вибору фільтра при розробці нових препаратів. У кожному конкретному випадку необхідно переконатися в хімічній сумісності досліджуваного розчину з матеріалом фільтру, а також у відсутності токсичних властивостей фільтрату. При підборі фільтрів враховувалися як характеристика матеріалу фільтрів, так і властивості отриманого розчину (рН розчину від 6,2 до 7,8).

Для встановлення взаємного впливу розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg» і фільтруючих матеріалів нами вивчалися фільтруючі мембрани виготовлені з поліефірсульфону фірми «Домнік Хантер» (Англія), капрону («МІФІЛ») і нейлону («Ultipor N66», «Pall»), з розміром пор 0,45 мкм (попередня фільтрація) і 0,2 мкм (стерилізуюча фільтрація). При виборі фільтрів враховувалися як характеристика матеріалу фільтрів, так і властивості отриманих розчинів.

Були приготовлені зразки розчинів, у кожний з яких поміщали один з видів фільтруючих мембран у співвідношенні 1:1, тобто на 1 см² фільтруючого матеріалу приходився 1 мл досліджуваного розчину. При проведенні цих випробувань контролювалися показники якості розчинів після контакту з перерахованими вище фільтруючими матеріалами за методиками, описаними у розділі 2.

Паралельно досліджувалися й інші показники якості розчину «ДГК-Arg» відповідно до методик, описаних у розділі 2. Отримані результати представлені в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

**Вплив різних фільтруючих матеріалів на показники якості
розчину «ДГК-Arg»**

Показник	Тривалість спостерега- ння, доба	Фільтруючий матеріал		
		капрон	нейлон	поліефір- сульфон
рН (6,8-7,8) ДФУ 2.2.3	1	7,05	7,05	7,06
	2	7,06	7,05	7,06
	3	7,06	7,05	7,05
Прозорість ДФУ 2.2.1	1,2,3	прозорий	прозорий	прозорий
Частки фільтра	1,2,3	відсутність	відсутність	відсутність

Примітка. n=5.

Таким чином, при контакті із зазначеними матеріалами фільтрів погіршення якості препарату не спостерігалось. Отримані дані дозволили зробити висновок про сумісність розчину «ДГК-Arg» з цими фільтруючими матеріалами. Аналогічні результати були отримані при дослідженні фільтрації розчину «ДГК-Meg» з вище вказаними фільтруючими матеріалами, які також рекомендовані для фільтрації даного розчину.

5.3. Вплив кисню повітря на стабільність розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg»

Одним з факторів, що сприяють деструктивним перетворенням лікарських речовин у розчинах, є присутність кисню повітря, який знаходиться в повітряному просторі ампули та розчиненого у воді [100].

Як зазначалося нами, на стабільність флавоноїдів, зокрема, ДГК також

впливає кисень повітря. З метою виключення негативного впливу кисню проведені дослідження з видалення його з розчину і заміні повітряної фази над розчином на інертний газ – азот.

Дію кисню повітря на ін'єкційний розчини «ДГК-Arg», «ДГК-Meg» встановлювали шляхом вивчення впливу різного об'єму кисню в ампулах на його кількісний вміст. Результати досліджень показали, що із збільшенням об'єму кисню в ампулі спостерігається більше зниження кількісного вмісту ДГК.

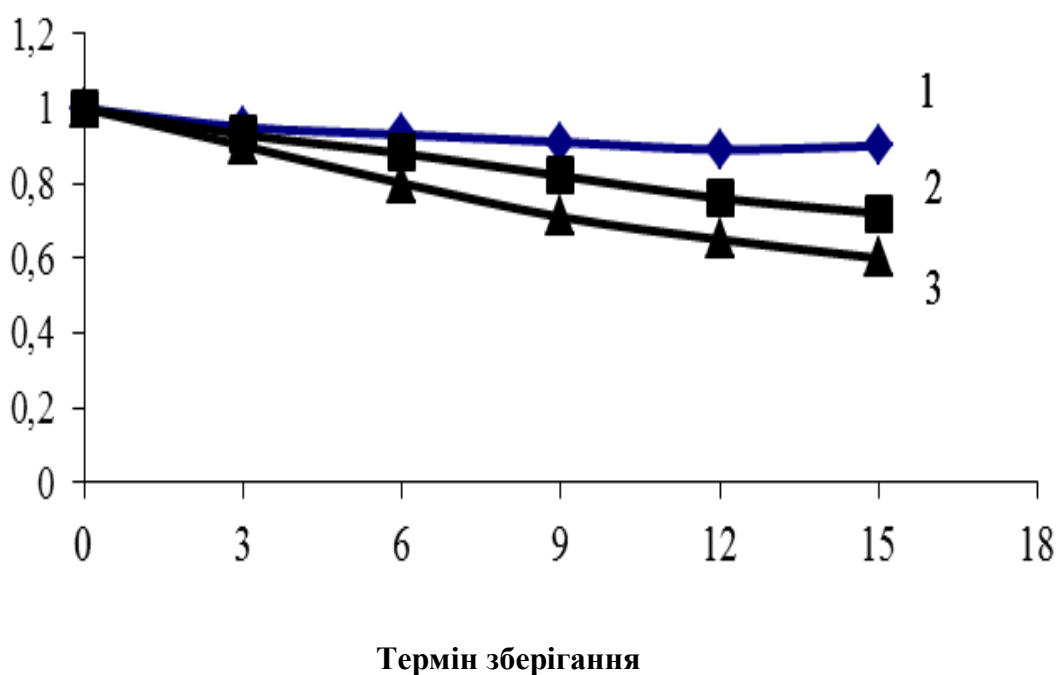


Рис. 5.1. Кінетична залежність кількісного вмісту ДГК від об'єму кисню в ампулі протягом часу зберігання: 1- об'єм кисню 0,21 см³; 2 – об'єм кисню - 0,31 см³; 3 - об'єм кисню 0,37 см³.

Результати досліджень, представлені на рисунку 5.1, показали, що зі збільшенням об'єму кисню в ампулі спостерігається зниження кількісного вмісту ДГК. Тому нами рекомендовано на стадії ампулювання розчину використовувати для заміщення кисню в об'ємі ампули інертний газ азот.

5.4. Вибір режиму стерилізації розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл

Одним із важливих показників забезпечення якості парентеральних препаратів є показник «стерильність». З метою забезпечення стерильності розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл були проведені дослідження різних режимів стерилізації ампул. При виборі оптимального режиму стерилізації нами враховувалися те, що спосіб стерилізації повинен гарантувати досягнення стерильності препарату, не викликаючи зміни фізико-хімічних властивостей розчину та деструкції діючої і допоміжних речовин. Підходящим способом стерилізації, згідно ДФУ, вважається стерилізація насиченою парою під тиском 0,11МПа при температурі 121 °С протягом 15 хвилин. Допускається інший спосіб стерилізації з обґрунтуванням його застосування. При фармацевтичній розробці слід надати обґрунтування щодо доцільності його використання [Фарм разработка. Стерильность].

Придатність способу стерилізації визначали за мікробіологічним (стерильність) та фізико-хімічними показниками (опис, прозорість, рН розчину, кількісний вміст) відповідно до методик, описаних в розділі 2. Результати досліджень придатності режиму стерилізації представлені в табл. 5.7. Як видно з цих даних, режим стерилізації 100 °С, 30 хв та режим «стерилізуючої фільтрації» в асептичних умовах придатні для стерилізації розчинів «ДГК-Arg», «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл, що дозволяє рекомендувати їх для промислового виробництва препаратів.

Слід зазначити, що всі зразки препарату були стерильні. При режимі стерилізації 121 °С протягом 15 хв спостерігається посилення інтенсивності забарвлення і зміна вмісту супровідних домішок. Тому більш раціональним є два других режими стерилізації розчину «ДГК-Arg». Апробація промислової технології з використанням способу «стерильної фільтрації» в асептичних

умовах розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл була проведена на ПрАТ «Біолік». Після проведеного контролю розчину, всі зразки були стерильними.

Таблиця 5.7

Вибір режиму стерилізації ін'єкційного розчину «ДГК-Arg»

в ампулах по 5 мл

Показники якості	Режим стерилізації					
	Температура 121 ⁰ С, 15 хв.		Температура 100 ⁰ С, 30 хв.		Стерилізуюча фільтрація	
	до стери- лізації	після стери- лізації	до стери- лізації	після стери- лізації	до стери- лізації	після стери- лізації
Прозорість ДФУ 2.2.1	прозо- рий	прозо- рий	прозо- рий	прозо- рий	прозо- рий	прозо- рий
рН розчину (6,8- 7,8), ДФУ 2.2.3	7,05	7,12	7,05	7,08	7,05	7,05
Супровідні домішки (вміст одиничної домішки не більше 4,0 %, сума домішок не більше 5,0 %)	0,07/ 0,38	0,05/ 0,48	0,07/ 0,37	0,09/ 0,29	0,09/ 0,08	0,09/ 0,08
Кількісний вміст, г/мл						
ДГК: (9,50- 10,50)	10,28	10,10	10,30	10,10	10,30	10,29
Стерильність	-	стери- льний	-	стери- льний	-	стери- льний

Примітка. n=5.

Аналогічні результати з вивчення режимів стерилізації були отримані для розчину «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл. Апробація промислової

технології з використанням способу стерилізації 100°C, 30 хв розчину «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл була проведена на АТ «Лекхім-Харків». Також всі зразки були стерильними.

5.4.1. Дослідження стерильності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл

Дослідження стерильності проводили методом мембранної фільтрації відповідно до ДФУ, 2.6.1. та розробленої методики для проекту МКЯ в ДП «ДНЦЛЗ».

Спочатку для визначення цілісності первинного пакування, що забезпечує запобігання мікробній контамінації препарату в процесі зберігання, проводили перевірку герметичності ампул. Перевірку здійснювали у вакуумній камері відповідно до стандартної операційної процедури. Дані експерименту представлені в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8.

Контроль герметичності та стерильності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл

Вид контролю	с. 1250918	с. 2250918	с. 3250918
Герметичність	Витримує випробування	Витримує випробування	Витримує випробування
Стерильність:			
Вихідні дані	Стерильний	Стерильний	Стерильний
6 міс.	Стерильний	Стерильний	Стерильний
12 міс.	Стерильний	Стерильний	Стерильний
18 міс.	Стерильний	Стерильний	Стерильний
24 міс.	Стерильний	Стерильний	Стерильний

В результаті проведених випробувань підтверджена цілісність системи

упаковки/закупорювання, що забезпечує захист розчину від мікробної контамінації.

При експериментальних дослідженнях також проводили контроль стерильності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл. Випробування проводили методом мембранної фільтрації на приладі «Steritest», використовуючи каністри «Steritest EZ», виробництва фірми «Millipore».

Вміст кожного із 20 контейнерів фільтрують через два мембранних фільтри одного комплекту каністр. Після закінчення фільтрації кожний мембранний фільтр відмивають стерильним розчином натрію хлориду 9 г/л трьома порціями, близько 100 мл кожна, вносять в одну каністру 100 мл тіогліколевого живильного середовища, в іншу каністру вносять 100 мл соєво-казеїнового живильного середовища.

Перевірка придатності методики випробування на стерильність проведена відповідно до вимог ДФУ (2.6.1) на трьох серіях розчину «ДГК-Arg» (1250918, 2250918, 3250918). Готували робочі суспензії монокультур, які містили не більше 100 КУО/мл тест – мікроорганізмів. Фільтрацію препарату здійснювали, як зазначено в методиці. До останньої порції промивної рідини (100 мл) додавали робочу суспензію (1 мл) відповідних тест – мікроорганізмів кожного окремо.

Для перевірки придатності висівання у тіогліколеве середовище використовували тест-мікроорганізми *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium sporogenes*.

Для перевірки придатності висівання у соєво-казеїнове живильне середовище використовували тест-мікроорганізми *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*.

Випробування з кожним із тест-мікроорганізмів проводили двічі.

Узагальнюючі результати перевірки придатності методики випробування на стерильність лікарського засобу «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл наведені в таблиці 5.9.

Таблиця 5.9

**Результати перевірки придатності методики випробування стерильності
лікарського засобу «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл (с. 1250918)**

Тест- мікроорганізм	В присутності випробуваного зразка		У відсутності випробуваного зразка (контрольний дослід № 1)		Середнє число КУО в 100 мл живил ьного середо вища	Контроль стерил.сті живил. дослід № 3)	Контроль стерильн. живил. середов. в експеримен ті (дослід № 4)	Контроль стерильн. промивної рідини (дослід № 5)
	Наявність та інтенсив. росту	Швидкість росту (год)	Наявність та інтенсив.р осту	Швид- кість росту (год)				
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	++	24	++	24	34	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	++	24	++	24	63			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	++	24	++	24	56			
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	++	48	++	48	72			
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	++	48	++	48	41			
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	++	48	++	48	31			

Примітка. + - інтенсивність росту не поступається контролю

Аналогічні дані отримані для двох других вказаних серій.

Як видно з таблиці 5.9 в умовах випробування на стерильність,

зазначених в методиці, в присутності випробуваного зразка спостерігається ріст відповідних тест-мікроорганізмів у тіогліколевому і соєво-казеїновому живильних середовищах. Інтенсивність росту тест-мікроорганізмів в присутності випробуваного зразка не поступається інтенсивності росту в контрольних дослідах. Можна зробити висновок, що методика випробування стерильності з використанням фільтраційної системи закритого типу для лікарського засобу «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл відповідає умовам придатності відповідно до вимог ДФУ, 2.6.1 та може бути використана при контролі якості лікарського засобу за показником «стерильність».

5.5. Дослідження впливу первинного пакування на показники якості розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg»

На стадії фармацевтичної розробки необхідно проводити дослідження з вибору первинного пакування. Важливим є вивчення впливу фізико-хімічних властивостей первинного пакування на показники якості лікарського препарату. Зазвичай первинним пакуванням для парентеральних розчинів є скляні ампули.

В Україні найчастіше використовують ампули із скла марок УСП-1, Schott Glass India, НС-1. Хімічний склад медичного скла представлений в таблиці 5.10.

Таблиця 5.10

Хімічний склад медичного скла

Склад скляних ампул							
Марки скла	SiO ₂	Al ₂ O ₃	B ₂ O ₃	CaO та MgO	Na ₂ O	K ₂ O	BaO
УСП-1	74,2	5,4	8,3	3,2	7,9	1,0	-
НС-1	73,0	4,5	4,0	8,0	8,5	2,0	-
Schott Glass India	72,0	4,0	8,5	1,0	7,5	2,0	3,5

В якості первинного пакування для розчинів «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg» використовували ампули по 5 мл із скла типу ИП-5С1 КИ-сз або ИП-5С1 ТИ-сз (із світлозахисного скла) по ТУ У 00480945-005-96 або типу USP 1 (1 гідролітичного класу) із жовтого трубчастого скла з низьким вмістом боросилікату виробництва фірми «Shandong Parmaceutical Glass Co., Ltd», Китай. Дослідження із стабільності розчину «ДГК-Arg» у вказаному первинному пакуванні представлені в таблиці 5.11.

Таблиця 5.11

**Показники якості розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл
(с. 2250918)**

Показники якості	Термін зберігання	Тип ампул	
		ИП-5С1	USP 1
1	2	3	4
Опис (Прозора рідина жовтого кольору)	вихідні дані, 6, 12, 18, 24, 27	Прозора рідина жовтого кольору	Прозора рідина жовтого кольору
Ідентифікація	вихідні дані, 6, 12, 18, 24, 27	Відповідає	Відповідає
Прозорість (має бути прозорим)	вихідні дані, 6, 12, 18, 24, 27	Відповідає	Відповідає
pH (6,2-7,8)	вихідні дані	7,21	7,21
	6 міс	7,20	7,14
	12 міс.,	7,14	7,15
	18 міс	7,15	7,12
	24 міс.	7,12	7,10
Об'єм, що витягається (не менш 5,0 мл)	вихідні дані		
	6 міс	> 5,0	> 5,0 1
	12 міс		
	24 міс.		
Супровідні домішки: Вміст одиночної домішки не більше 4,0 %, сума домішок не більше 5,0 %	вихідні дані	0,06	0,06
	6 міс	0,07	0,06
	12 міс.,	0,99	0,85

Продовж. табл. 5.11

1	2	3	4
	18 міс	1,12	0,98
	24 міс.	1,17	1,13
Механічні включення: невидимі частки: (часток ≥ 10 мкм – не більше 6000, часток ≥ 25 мкм – не більше 600 в ампулі)	6 міс	$\geq 10\text{мкм} - < 6000$ $\geq 25\text{мкм} - < 600$	$\geq 10\text{мкм} - < 6000$ $\geq 25\text{мкм} - < 600$
Механічні включення: видимі частки: (має бути практично вільним від часток)	12 міс.	Вільний від часток	Вільний від часток
Стерильність (препарат має бути стерильним)	24 міс	Стерильний	Стерильний
Бактеріальні ендотоксини (менше 70 МО/мл)	24 міс.	< 70 МО/мл	< 70 МО/мл
Кількісний вміст, г/мл			
ДГК (9,00- 11,00)	вихідні дані	10,00	10,01
	6 міс	10,00	10,01
	12 міс.	10,00	10,01
	18 міс.	10,00	10,01
	24 міс	10,00	10,01
	18 міс.	9,56	9,61
	24 міс	9,56	9,61

Примітка. При аналізі якості розчину серій 0518 та 0618 отримані схожі результати, тому наведені дані лише для однієї з трьох серій препарату в ампулах по 5 мл.

Проведені дослідження взаємодії розчину «ДГК-Arg» з первинним пакуванням показали, що розчин за фізико-хімічними та біологічними характеристиками відповідав всім показникам нормативної документації (проект МКЯ) після приготування і під час зберігання препарату

(спостерігаємий термін). Отже, матеріал (скло ампул) не впливає на показники якості препарату протягом регламентованого терміну зберігання, досліджені скляні ампули із світлозахисного скла по 5 мл обох типів придатні в якості первинного пакування препарату «ДГК-Arg».

5.5.1. Визначення терміну придатності розчину «ДГК-Arg»

Термін придатності розчину «ДГК-Arg» визначали при довгостороковому зберіганні при температурі (25 ± 2) °C і відносній вологості (60 ± 5) % на протязі 27 місяців зберігання (проміжок контролю 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 27).

Умови зберігання відповідали вимогам CPMP/QWP/122/02 Guideline on stability testing: stability testing of existing active substances and related finished products, 2004. Guidance for Industry и CPMP/QWP/2934/99 In use stability testing of human medicinal products.

У процесі зберігання розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл визначали такі показники його стабільності: опис, ідентифікація, pH, прозорість, механічні включення, кількісний вміст за методиками проекту МКЯ.

Результати вивчення стабільності двох других серій препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл були ідентичні.

Встановлено, що в процесі зберігання розчин «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл при кімнатній температурі зберігає фізико-хімічні показники якості, що відповідають проекту МКЯ протягом 27 місяців. Препарат дає чіткі позитивні реакції ідентифікації, pH, прозорість, механічні включення на всіх контрольних етапах експерименту знаходяться в припустимих межах. Кількісний вміст ДГК знаходиться в межах помилки виміру протягом вказаного терміну зберігання.

Таким чином, на основі досліджень нами рекомендовано зберігати розчини «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл при кімнатній температурі в захищеному від світла місці. Термін придатності 2 роки.

5.5.2. Підтвердження експлуатаційних якостей первинного пакування (показник «об'єм, що витягається»).

Згідно з вимогами ДФУ, 2.9.17, об'єм ін'єкційного розчину в контейнері (ампулі) має бути більше номінального і відповідати значенням, наведеним в таблиці 5.12. Нами проведений контроль на відповідність даному показнику. Відбирали по 5 ампул кожної серії, вносили розчин в сухий мірний циліндр, місткістю 10 мл та визначали об'єм, що витягається, згідно методики ДФУ, 2.9.17. Об'єм, що витягається, для розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл повинен бути не менш номінального, тобто не менше 5,0 мл.

Таблиця 5.12

**Результати випробувань за тестом «об'єм, що витягається» для розчину
«ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл**

Номер зразка	Об'єм, що витягається, мл		
	серія 010418	серія 020418	серія 030418
1	5,10	5,15	5,21
2	5,17	5,17	5,10
3	5,18	5,21	5,15
4	5,20	5,25	5,15
5	5,20	5,20	5,20

Проведені дослідження підтверджують експлуатаційні якості первинного пакування (ампули скляні по 5 мл), і її придатність для зберігання і застосування досліджуваного лікарського засобу.

5.6. Визначення сумісності розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл із розчинниками для інфузійного застосування

В результаті фармакологічних досліджень було встановлено, що розчин «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл рекомендується для застосування дорослим тільки внутрішньовенно крапельно в розведенні на 50 – 100 мл розчинника. Таким чином, препарат «ДГК-Arg» представляє собою концентрат для розчину для інфузій 10 мг/мл, по 5 мл в ампулах. Тому на стадії фармацевтичної розробки необхідно провести дослідження з вибору підходящого розчинника для проведення інфузійної терапії.

Був досліджений розчин «ДГК-Arg» при розведенні розчинами для інфузій, що випускаються фармацевтичною промисловістю. Для стабільного зберігання розчину «ДГК-Arg» було встановлено оптимальне значення рН розчину від 6,2 до 7,8. Тому при виборі розчинів для розведення необхідно звертати увагу на критичні значення рН розчину.

При дослідженні було встановлено, що при розведенні його інфузійним розчинами 0,9% натрію хлориду (рН 6,0-7,5), розчином глюкози 5% (рН 4,0 - 6,5), розчином Рінгера (рН 5,0-6,0) розбавлений розчин був прозорим та рН знаходився в регламентованих допусках. Отже, для розведення розчину «ДГК-Arg» можна рекомендувати всі вище приведені досліджені інфузійні розчини.

Для запобігання мікробіологічній контамінації отриманого розчину для інфузій його необхідно вводити одразу ж після приготування. Якщо розчин не використали негайно, при належному контролі за умовами його зберігання він може зберігатися протягом 24 годин при температурі не вище 2-8 °С та в захищеному від світла місці. Результати проведених досліджень представлені в таблицях 5.13-5.14.

Таблиця 5.13

**Вивчення сумісності розчину «ДГК-Arg» з розчином
натрію хлориду 0,9%**

Показники	Склад суміші для інфузійного розчину					
	Розчин ДГК+ розчин натрію хлориду 0,9 % (5 мл+50мл)			Розчин ДГК + розчин натрію хлориду 0,9 % (5мл+100 мл)		
Тривалість, год.	1	2	3	1	2	3
Наявність осаду, зависі, каламутності	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність
pH суміші	6,85	6,85	6,88	6,89	6,88	6,88

Таблиця 5.14

**Вивчення сумісності розчину «ДГК-Arg» з розчином
глюкози 5%**

Показники	Склад суміші для інфузій					
	Розчин ДГК+ глюкози 5% (5 мл+50мл)			Розчин ДГК + глюкози 5% (5мл+100 мл)		
Тривалість, год.	1	2	3	1	2	3
Наявність осаду, зависі, каламутності	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність
pH суміші	6,95	7,00	6,89	6,95	6,89	7,05

Таблиця 5.15

Вивчення сумісності розчину «ДГК-Arg» з розчином Рингера

Показники	Склад суміші для інфузій					
	Розчин ДГК+ Рингера (5 мл+50мл)			Розчин ДГК + Рингера(5мл+100 мл)		
Тривалість, год.	1	2	3	1	2	3
Наявність осаду, зависі, каламутності	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність	відсут- ність
рН суміші	6,83	6,85	6,85	6,86	6,87	6,87

При застосуванні препарату використовують відповідне додаткове обладнання (шприц одноразовий місткістю 5 мл , пристрій для вливання кровозамінників та інфузійних розчинів), яке випускається фармацевтичною промисловістю. При контакті розчину з матеріалами вказаних пристроїв не спостерігалось випадіння осаду, зависі або поява каламутності, не змінювалися його фізико-хімічні властивості, такі як прозорість, опис, рН, кількість супровідних домішок, кількісний вміст діючої речовини. За всіма показниками зразки препарату, що пройшли через пристрої для проведення інфузії, відповідали вимогам МКЯ. Це дозволило зробити висновок про сумісність досліджуваного розчину з матеріалами додаткового обладнання для застосування препарату.

5.7. Технологічний процес одержання розчину «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» в ампулах по 5 мл

Проведені експериментальні роботи та випробування технології препаратів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg» в заводських умовах дозволили розробити і стандартизувати її в технологічних регламентах на виробництво

даних препаратів.

Розроблений виробничий процес включає наступні стадії, що традиційно використовуються у виробництві препаратів для ін'єкцій в ампулах скляних:

- Санітарна підготовка виробництва;
- Приготування і фільтрація розчину;
- Підготовка первинного пакування;
- Наповнення і герметизація ампул з розчином;
- Маркування та пакування ампул з розчином;

На рис. 5.2. представлена блок-схема технологічного процесу виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл.

5.7.1. Опис стадій технологічного процесу

Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва.

Санітарна підготовка виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл проводиться відповідно до СОП «Санітарна підготовка виробництва». Санітарна підготовка виробництва включає наступне:

- Підготовка вентиляційного повітря;
- Приготування дезінфікуючих розчинів;
- Санітарна підготовка виробничих приміщень;
- Санітарна підготовка обладнання;
- Підготовка персоналу і технологічного одягу до роботи.

Санітарна підготовка виробництва розчину «ДГК-Arg» здійснюється відповідно до сучасних вимог, що пред'являються до виробництва ін'єкційних препаратів.

Стадія 2. Підготовка первинного пакування.

Підготовка первинного пакування (ампули скляні місткістю 5 мл) проводиться відповідно до документів підприємства (стандартних операційних процедур), які регламентують підготовку матеріалів первинного

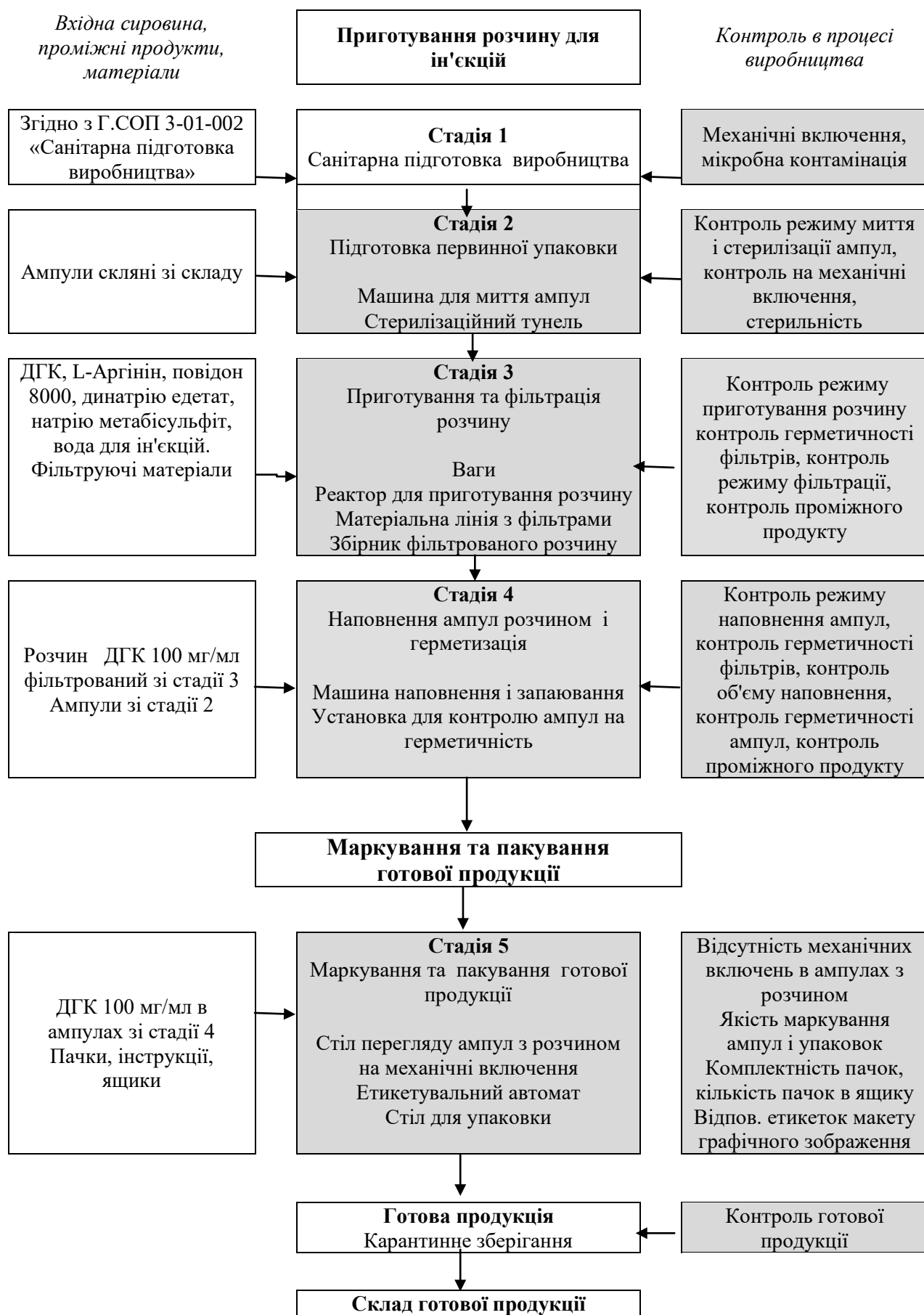


Рис. 5.2 Блок-схема технологічного процесу виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл.

Примітка. Сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва..

пакування упаковки, і складається з наступних операцій: миття ампул; сушка та стерилізація ампул. Миття та стерилізація ампул здійснюється в приміщенні класу чистоти D. На стадії контролюють: тривалість миття (попереднього та фінішного), температуру в зоні стерилізації та в зоні охолодження.

Контроль матеріалів первинного пакування здійснюється за показниками: стерильність, механічні вclusions.

Підготовлені ампули передають на стадію 4. Наповнення ампул розчином і герметизація.

Стадія 3. Приготування і фільтрація розчину.

Проводять вхідний контроль основної та допоміжної сировини, необхідної для виробництва препарату та передають у виробництво після видачі аналітичних листів та письмового дозволу до використання у виробництві, підписаного відповідальною особою. Передача сировини у виробничі приміщення здійснюється через «Вантажний тамбур-шлюз» (клас чистоти H/D).

Згідно з виробничою рецептурою і даними аналітичних листів розраховують кількість компонентів, необхідних для виробництва однієї серії препарату. Зважування проводять в приміщенні класу чистоти D, робоча зона клас: C. Операцію здійснюють згідно Технологічній інструкції /Протоколу виробництва. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва серії.

Зважування компонентів проводять в боксі для зважування, зі встановленим фільтром класу H 13, для створення безпильового робочого середовища і робочої зони класу чистоти C з метою захисту сировини від зовнішнього впливу. Розраховану кількість сировини зважують на вагах в

спеціальні ємкості.

Ємкості з сировиною маркують етикетками, роздрукованими на принтері ваг, і передають через матеріальний шлюз у приміщення приготування розчину. Контролюють масу наважок ДГК, L-аргініну, ПВП, динатрію едетату, натрію метабісульфіту.

Приготування розчину проводять в класі чистоти С.

У реактор по трубопроводу із збірника води для ін'єкцій подають воду для ін'єкцій та охолоджують до температури 45-55 °С в кількості близько 80 % від об'єму серії. Включають мішалку і в реактор завантажують наважку динатрію едетату та натрію метабісульфіту, перемішують розчин протягом 10-15 хв. (до повного розчинення компонентів). Потім додають ПВП 8000 та розчиняють при перемішуванні 15-20 хв, далі завантажують в реактор наважки ДГК та L-аргініну, розчиняють при перемішуванні 15-20 хв.

Контролюють повноту розчинення візуально. Охолоджують розчин до температури 15-25 °С.

Зупиняють мішалку і відбирають пробу на рН розчину. рН розчину повинен знаходитися в межах 6,9-7,4. Об'єм розчину доводять водою для ін'єкцій до необхідного об'єму. Отриманий розчин перемішують протягом 15-20 хв.

Після закінчення процесу приготування розчину відбирають середню пробу для контролю проміжного продукту згідно з методиками постадійного контролю за показниками:

- зовнішній вигляд розчину (прозора рідина жовтого кольору.)
- рН розчину (6,5-7,5);
- кількісний вміст в 1 мл: ДГК (від 9,5 мг до 10,5мг) ; L-аргініну (від 8,978 мг до 9,923мг)

Стерилізуючу фільтрацію розчину проводять в приміщеннях класу чистоти С, В (А).

Після проведення контролю проміжного продукту розчин під тиском азоту передають на фільтри для попередньої і фінішної фільтрації розчину з розміром пор від 0,8 до 0,2 мкм. Контролюють рейтинг пор фільтрів, їх цілісність, режим фільтрації. Після фільтрації розчин поступає в збірник фільтрованого розчину, з якого відбирають пробу для проведення контролю проміжного продукту за показниками: механічні включення, прозорість (повинен бути прозорий), опис (прозора рідина жовтого кольору.) При отриманні позитивних результатів фільтрований розчин по матеріальній лінії під тиском 0,03-0,1 МПа надходить на стадію 4. Наповнення ампул розчином і герметизація.

Стадія 4. Наповнення ампул розчином і герметизація.

Наповнення та запайку ампул проводять в приміщенні класу чистоти (А).В . Операції здійснюють згідно Технологічній інструкції. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва.

Фільтрований розчин подається на машину наповнення і запайки. Контролюють наладку машини на необхідний об'єм наповнення – 5,3 мл.

Стерильні ампули надходять зі стадії 2. Їх наповнюють розчином, повітряний простір над розчином в ампулі заміщають стерильним фільтрованим азотом. Після наповнення ампули з розчином переміщуються в зону запайки та запаюються.

На стадії контролюють проміжний продукт за показниками: прозорість (повинен бути прозорий), опис (прозора рідина жовтого кольору.) об'єм, що витягається (не менше 5,0 мл).

Запаяні ампули подаються по передавальному конвеєру до приймального лотка, де їх збирають в касети і направляють на контроль герметичності.

Перевірку ампул на герметичність проводять в прохідному стерилізаторі з використанням програми «Краш-тест» потім передають ампули на мийку. Ампули в касетах поміщають у ванну, відбирають ампули, які не витримали випробування, та відбраковують.

Ампули, що витримали випробування на герметичність, поміщають в касети, встановлюють на піддони, ідентифікують етикеткою «Карантин» із зазначенням найменування проміжного продукту, номера серії і передають через передавальний шлюз в приміщення карантинного зберігання. Зберігають при температурі не вище 25 °С. Після позитивного аналізу на стерильність і бактеріальні ендотоксини ампули в касетах передають на стадію 5. Маркування та пакування готової продукції.

Стадія 5. Маркування та пакування готової продукції

Контроль розчину на механічні включення проводять в некласифікованому приміщенні. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва.

Проводять первинний - внутрішньоцеховий суцільний контроль (100% ампул) на механічні включення, якість запаювання, точність дозування, відсутність пригару і інші види браку.

Контроль здійснюється візуально на столах для перегляду ампул згідно СОП «Перегляд на механічні включення» або в автоматичному режимі автоматичної інспекційної машини згідно СОП.

Вторинний контроль - внутрішньоцеховий вибіркового і третій - вибіркового контролю ВКЯ. Результати контролю ВКЯ заносить в Протоколи виробництва та постадійного контролю. Далі ампули, що пройшли контроль на механічні включення і інші види браку, в касетах передають на маркування і пакування.

Маркування ампул здійснюється на автоматі для маркування ампул.

На етикетувальному автоматі або горизонтальній машині для нанесення етикеток на ампули наклеюють етикетки. Текст на ампулі згідно з оригінал-макетом графічного оформлення, наведеним в МКЯ.

В процесі маркування контролюють: відповідність етикетки макету графічного зображення, наведеному в МКЯ, правильність і чіткість нанесення номера серії та терміну придатності.

Результати контролю ВКЯ заносить в Протоколи упаковки і постадійного контролю. По 5 шт. ампул вкладають в односторонній блістер на автоматичній машині, де здійснюється формування блістера з плівки і укладання в блістер ампул.

По 2 блістери з ампулами упаковують разом з інструкцією по медичному застосуванню в пачку.

В процесі упаковки контролюють комплектність упаковки (кількість ампул в пачці, наявність інструкції з медичного застосування, маркування пачки (якість нанесення тексту, відповідність найменування препарату, номера серії та терміну придатності на штампі і пачці), відповідність етикетки макету графічного зображення, наведеному в МКЯ.

Пачки упаковують вручну в групову упаковку - ящики з картону гофрованого. На кожен ящик наклеюють етикетку. Маркування транспортної тари проводиться відповідно до ГОСТ 14192-96.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 17768-90.

Упаковану продукцію встановлюють на піддони, ідентифікують етикеткою із зазначенням статусу «Карантин» і передають на карантинне зберігання до отримання результатів аналізу на відповідність препарату вимогам МКЯ.

Після отримання позитивних результатів аналізу на відповідність препарату вимогам МКЯ його направляють на склад.

5.7.2. Валідаційні характеристики технологічного процесу. Встановлення критичних точок

Валідація процесу виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл включає тестування технологічного процесу трьох серій препарату, які виробляються підряд.

Оцінка процесу проводиться на відповідність таким критеріям прийнятності:

- відповідність параметрам технологічного процесу, зазначеним у регламенті виробництва;
- відповідність показниками якості, зазначеним в МКЯ;
- придатність процесу забезпечувати ефективне і відтворюване виробництво лікарського засобу.

В цілях валідації для кожної серії лікарського засобу стадії і операції технологічного процесу проводяться при різних параметрах процесу, з урахуванням технологічних допусків, тобто мінімальне, середнє і максимальне значення параметра технологічного процесу.

Відбір проб для проведення валідаційних випробувань проводиться з урахуванням кожного значення параметра процесу (мінімальне, середнє і максимальне значення параметра технологічного процесу) з метою подальшого аналізу результатів та їх оцінки.

Випробування в рамках валідації, по можливості, проводяться на різному аналітичному обладнанні, різними виконавцями. Результати проведення випробувань реєструються в протоколах виробництва та протоколах контролю та валідаційних протоколах.

На підставі отриманих результатів проводиться оцінка правильності дії персоналу, розглядається правильність та адекватність методик здійснення операцій технологічного процесу (відповідність можливостям і призначенню обладнання), здатність персоналу забезпечити виконання операцій технологічного процесу. Розглядається правильність ведення технологічного процесу (забезпечення якості продукції під час виконання всіх параметрів процесу). Розраховуються індекси відтворюваності, що дозволяють оцінити ступінь надійності технологічного процесу.

Процес виробництва під час валідації процесу не відрізняється від звичайного стандартного виробничого процесу. Під час валідації процесу контрольовані параметри реєструються у валідаційних протоколах. Для проведення валідації виробництва препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл нами встановлені критичні точки, які вказані в таблиці 5.16.

Таблиця 5.16

Критичні точки проведення процесу валідації препарату**«ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл**

Критична точка (назва стадії)	Вплив на якість готової продукції	Можлива причина	Метод контролю
Санітарна підготовка виробництва	Невідповідність готової продукції показникам МКЯ	Контамінація приміщень, обладнання, персоналу, наявність механічних часток в повітрі робочої зони	Мікробіологічний. Фізичний (за допомогою лічильника аерозольних і механічних часток)
Приготування і фільтрація розчину	Невідповідність готової продукції показникам МКЯ	Неточність зважування сировини і води для ін'єкцій, порушення цілісності фільтруючого матеріалу	Фізичний (ваговий). Кількісне визначення (ВЕРХ), Визначення рН розчину: потенціометричний. Перевірка герметичності фільтру: тест «точки бульбашки»
Наповнення ампул розчином і герметизація	Невідповідність готової продукції показникам МКЯ	Невідповідність об'єму наповнення, неякісне запаювання та негерметичність ампул. Продукт нестерильний, рівень бактеріальних ендотоксинів перевищує межу	Об'ємний, візуальний. Мікробіологічний, біологічний.
Маркування та пакування готової продукції	Невідповідність готової продукції показникам МКЯ	Невідповідність маркування ампул і пачок. Некомплектність упаковки	Візуальний

5.8. Стандартизація показників якості та методик аналізу розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл

Стандартизацію розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл та нерозфасованої продукції проводили згідно з вимог ДФУ загальної статті «Парентеральні лікарські засоби» та ряду нормативних документів [ДФУ 1.2, Настанова з якості –].

В специфікацію введені наступні показники: опис; ідентифікація; прозорість; рН розчину; об'єм, що витягається; механічні включення; супровідні домішки; стерильність; бактеріальні ендотоксини; кількісний вміст. В таблиці 5.17. представлена специфікація, яка включена до проекту МКЯ на розчин ««ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл.

Таблиця 5.17

СПЕЦИФІКАЦІЯ

на розчин «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл

Показники	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
	<i>На момент випуску</i> <i>Під час зберігання</i>	
Опис	Прозора рідина жовтого кольору	Візуально
Ідентифікація <i>Дигідрокверцетин</i>	На хроматограмах випробовуваного розчину, отриманих при кількісному визначенні ДГК, час утримування основного піка повинен збігатися з часом утримування піка ДГК на хроматограмі розчину порівняння	ДФУ, 2.2.29
	УФ-ВИД спектр поглинання фільтрату в області від 225 нм до 400 нм повинен мати максимуми поглинання при 291 ± 2 нм і мінімум при 251 ± 2 нм.	ДФУ, 2.2.25
<i>Аргінін</i>	Основна пляма на хроматограмі випробовуваного розчину має спостерігатися основна пляма, розташована на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння аргініну і збігається з ним за кольором і інтенсивності забарвлення.	ДФУ, 2.2.27

Продовж. табл. 5.17

1	2	3
<i>Натрію метабісульфіт</i>	Повинен виконуватися тест «Кількісне визначення. Натрію метабісульфіт»	ДФУ, 2.2.29
Прозорість розчину	Препарат має бути прозорим	ДФУ, 2.2.1
pH	Від 6,2 до 7,8	ДФУ, 2.2.3
Супровідні домішки	Вміст одиничної домішки не більше 4,0 %, сума домішок не більше 5,0 %	ДФУ, 2.2.29
Об'єм, що витягається	Не менше 5 мл	ДФУ, 2.9.17
Механічні включення	Практично вільний від часток. Часток з розміром ≥ 10 мкм має бути не більше 6000 в ампулі; часток з розміром ≥ 25 мкм має бути не більше 600 в ампулі	ДФУ, 2.9.20
Невидимі частки		ДФУ, 2.9.19, метод 1
Стерильність	Препарат має бути стерильним	ДФУ, 2.6.1
Бактеріальні ендотоксини	Менше 70 МО/мл	ДФУ, 2.6.14
Кількісне визначення:		
<i>Дигідрокверцетин</i>	Від 9,50 мг/мл до 10,50 мг/мл	ДФУ, 2.2.29
<i>Натрію метабісульфіт</i>	Від 1,9 мг/мл до 2,15 мг/мл при випуску препарату. Від 1,50 мг/мл до 2,15 мг/мл в процесі збегігання.	ДФУ, 2.2.27
Зберігання	При температурі не вище 25 °С. Не заморожувати	
Термін придатності	2 роки.	

Розділ «Опис». Препарат представляє собою прозору рідину жовтого кольору. Колір препарату обумовлений основною діючою речовиною - дигідрокверцетином.

Розділ «Ідентифікація» В цей розділ включено три тести ідентифікації: тест ідентифікації дигідрокверцетину, аргініну і тест ідентифікації консерванту - натрію метабісульфіту. Ідентифікацію дигідрокверцетина пропонуємо проводити двома методами - спектрофотометричним і хроматографічним. УФ-ВИД спектр розчину препарату в області від 225 нм до 400 нм повинен мати максимуми поглинання при 291 ± 2 нм і мінімум при 251 ± 2 нм. Ці довжини хвиль характерні для дигідрокверцетина, інші допоміжні речовини не заважають проведенню даного тесту. Спектри поглинання представлені на рисунку 5.3.

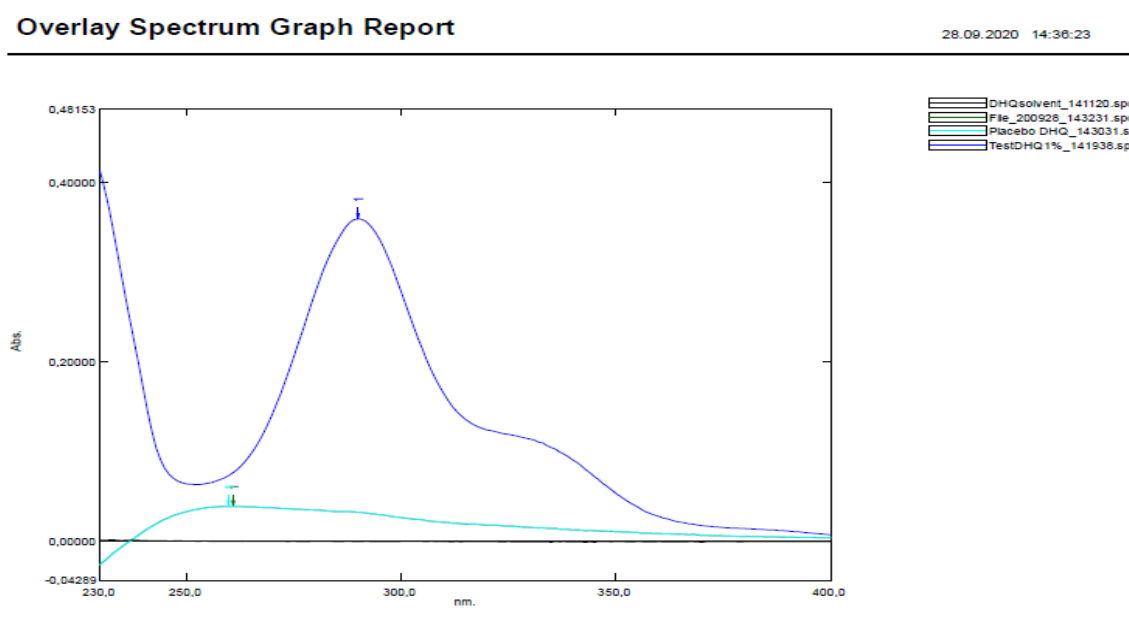


Рис. 5.3 Спектри поглинання ррозчину препарату, розчину СО дигідрокерцетину, розчину плацебо і розчинника

Другим тестом, що підтверджує концентрацію ДГК в препараті є хроматографічне визначення основної діючої речовини методом ВЕРХ в градієнтному режимі. Хроматограми випробовуваного розчину, розчину плацебо та розчину порівняння ДГК і розчинника представлені на рисунку 5.4.

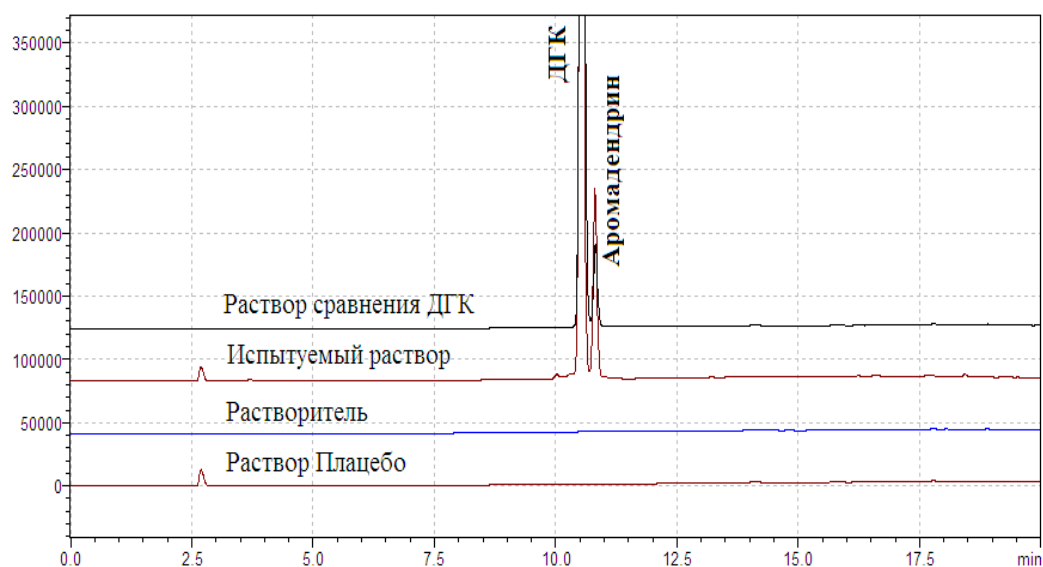


Рис. 5.4 Хроматограми випробовуваного розчину, розчину плацебо, розчину порівняння ДГК і розчинника

Ідентифікацію аргініну пропонуємо проводити методом тонкошарової хроматографії за збігом положення, інтенсивності забарвлення основної плями на хроматограмі випробовуваного розчину і основної плями на хроматограмі розчину порівняння аргініну. Умови хроматографування близькі до умов хроматографування, які описані в монографії ЄФ 7 видання, монографія «Arginine». Хроматограма представлена на рисунку 5.5.

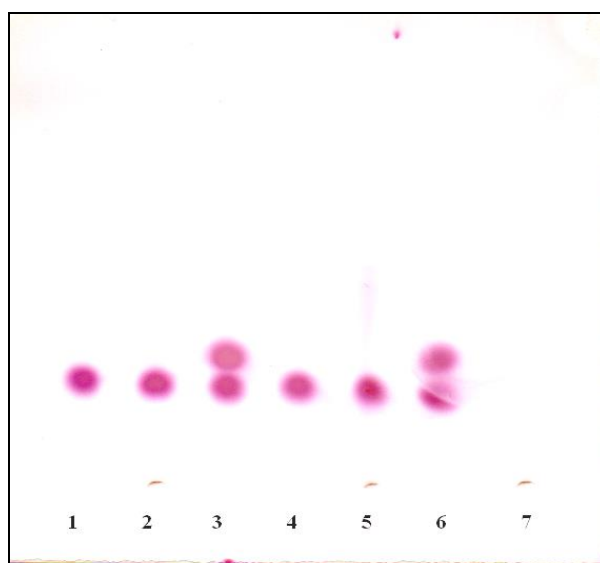


Рис. 5.5 Хроматограми випробовуваного розчину (2,5), розчину порівняння аргініну (1,4), розчину для перевірки хроматографічної системи (3,6) і розчину плацебо препарату (7)

Значення R_f плям аргініну знаходяться в межах від 0,28 до 0,40 і залежать від серії використовуваних пластин. При збільшенні вмісту розчину аміаку в рухомій фазі значення R_f зростають.

Наявність антиоксиданту встановлювали при кількісному визначенні метабісульфіту йодометричним методом.

Показник «прозорість» визначали згідно ДФУ, 2.2.1, візуально. Препарат повинен бути прозорим.

Оскільки, препарат містить основну діючу речовину ДГК, розчини якого мають досить інтенсивне жовте забарвлення, в специфікацію даний показник не включали.

Супровідні домішки визначали методом рідинної хроматографії відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29. В результаті досліджень серій препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл було встановлено нормування. Вміст одиничної домішки не більше 4,0 %, сума домішок не більше 5,0 %. Приготовування випробовуваного розчину, розчину порівняння ДГК та умови хроматографування застосовувались, як і для методики «кількісне визначення ДГК».

Вміст кожної домішки (X_{imp}), в процентах, розраховують за формулою:

$$X_{imp} = \frac{S_{imp} \times 100}{\sum S}, \quad (5.1)$$

де S_{imp} – середнє значення площ піків домішки, розраховане з хроматограм *випробовуваного розчину*;

$\sum S$ – середнє значення суми площ піків в інтервалі від 0,7 до 1,8 відносного часу утримування основного піка, розраховане з хроматограм *випробовуваного розчину*;

Результати вважаються достовірними, якщо виконуються критерії пригодності хроматографічної системи, що вказані в розділі «Кількісне визначення. ДГК»

5.9. Обговорення результатів токсикологічних та специфічних фармакологічних досліджень ЛЗ «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл

Дослідження гострої токсичності препарату «ДГК-Arg» проводили при двох шляхах введення на трьох видах тварин в лабораторії фармакології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» під керівництвом доктора біол.н. Малової Н.Г.

Дослідження гострої токсичності препарату «ДГК-Arg» проводили при двох шляхах введення на трьох видах тварин в лабораторії фармакології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» під керівництвом доктора біол.н. Малової Н.Г.

Аналіз отриманих даних показав, що інтегральні показники життєдіяльності тварин – маса та температура тіла не зазнавали суттєвих індивідуальних змін впродовж 14 діб спостереження. Відмічений незначний фізіологічний приріст маси тіла у тварин. Жодного випадку загибелі тварин не зареєстровано. Отже, виходячи із отриманих даних проведеного експерименту парентеральний розчин «ДГК-Arg» за ступенем небезпечності відноситься до нешкідливих препаратів (VI клас).

Висновки до розділу 5:

1. Вивчені та відпрацьовані технологічні прийоми приготування розчину «ДГК-Arg». Для одержання стабільної лікарської форми досліджені два режими приготування з різним порядком введення вихідних інгредієнтів, температурних режимів розчинення та тривалості і швидкості перемішування при приготування розчину. Досліджені та рекомендовані фільтруючі матеріали, з урахуванням взаємного впливу компонентів розчину, рН середовища.

2. Проведені дослідження різних режимів стерилізації ампул з розчином «ДГК-Arg» з метою вибору найбільш підходящого для забезпечення

стерильності розчину та збереження фізико-хімічних показників. Рекомендовано два режими стерилізації: 100 °С протягом 30 хвилин та «стерилізуюча фільтрація», які гарантують досягнення стерильності препарату та не викликають деструкції компонентів і зміни фізико-хімічних властивостей розчину.

3. Вивчено сумісність розчину «ДГК-Arg» з первинним пакуванням. В якості первинного пакування рекомендовані ампули типу ИП5С1 та USP 1. В даному виді пакування розчин був стабільним за всіма показниками якості проекту МКЯ протягом 27 місяців зберігання.

4. На основі вивчення фізико-хімічних показників розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл у процесі зберігання встановлений термін придатності й умови зберігання: 2 роки при кімнатній температурі в захищеному від світла місці.

5. Розроблена та валідована методика кількісного визначення ДГК та супровідних домішок в препараті методом ВЕРХ.

6. Результати експериментів з вивчення гострої токсичності препарату свідчать про те, що за значенням LD₅₀ при внутрішньовенному шляху введення препарат належить до класу малотоксичних сполук.

Результати експериментальних досліджень, що містяться в даному розділі, наведено в таких публікаціях:

1. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Розробка технології одержання ін'єкційного розчину високоочищеного дигідрокверцетину. *The scientific heritage*. 2020. Vol. 1, No 52. P. 15-18.

2. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Розробка складу парентерального розчину високочистого дигідрокверцетину. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. І Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Харків, 5 квітня 2018 р. Харків, НФаУ, 2018. С. 22-23.

З. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Старовєров В. М., Бєгунова Н. В.
Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного
розчину: пат. № 117389 Україна. № а 2016 07155; заявл. 01.07.2016; опубл.
25.07.2018, Бюл. № 14.

ВИСНОВКИ

Вперше в Україні проведені систематизовані наукові дослідження з питань розробки та стандартизації технології виробництва оригінальних ін'єкційних препаратів в ампулах по 5мл під умовною назвою «ДГК-Arg» і «ДГК-Meg» та оральних неводних розчинів для сублінгвального застосування «ДГК-Р» та «ДГК-G» (зареєстровані в якості дієтичних добавок) на основі біофлавоноїду дигідрокверцетину (ДГК).

1. Аналіз даних наукової літератури показав, що на сучасному рівні велику увагу приділяють природним БАР, особливо тим, які мають широкий спектр фармакологічної дії. До них належить біофлавоноїд із сибірської модрини дигідрокверцетин (ДГК). Встановлено, що на даний час в Україні та в світі відсутні розчинні форми ДГК для орального та парентерального застосування, які вкрай необхідні для профілактики і лікування серцево-судинної патології. Показана необхідність розробки і виробництва сучасних оригінальних розчинних форм ДГК.

2. Розроблено науково-методологічний підхід до створення водорозчинних форм з високоочищеним біофлавоноїдом ДГК. Представлена загальна методологія досліджень, яка полягає в виборі допоміжних речовин для одержання стабільних розчинів.

3. Проведено маркетингове дослідження фармацевтичного ринку щодо присутності препаратів природного походження з групи флавоноїдів ангіопротекторної для лікування та профілактики серцево-судинних патологій. Встановлено, що упродовж 2016-2019 рр. в сегменті ФР, на якому представлені препарати із групи С05-Ангіопротектори відмічається позитивна динаміка зростання обсягів продажів ЛП з 115,62 млн грн до 216,17 млн грн (на 87,0%).

4. Проведено дослідження фізико-хімічних і технологічних показників ДГК та ДР. Виходячи з комплексу характеристик діючої та допоміжних

речовин створено алгоритм для розробки складу, технології та контролю якості ін'єкційних та оральних рідких розчинів відповідно до вимог ДФУ.

5. Вперше розроблено та валідовано методики контролю якості діючої речовини – біофлавоноїду ДГК з метою стандартизації та подальшого використання в якості субстанції для ЛФ та ДД. Обґрунтовано специфікацію та розроблено проект МКЯ.

6. Теоретично та експериментально обґрунтовано якісний і кількісний склад парентеральних розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg», розчинів на основі неводних розчинників у вигляді дієтичних добавок «ДГК-Р» «ДГК-Р». Встановлено співвідношення ДГК та допоміжної речовини лужної природи для одержання водних розчинів в інтервалі (1 : 1,6-1,8) Моля. Для стабілізації розчинів доведена доцільність застосування високомолекулярних сполук. Визначено основні показники якості, досліджено стабільність та встановлено термін придатності. Досліджені та рекомендовані неводні розчинники для одержання оральних розчинів: 10 % - гліцерин; 20 % - пропіленгліколь, досліджена стабільність у полімерному пакуванні.

7. Вперше обґрунтовано та розроблено оптимальну промислову технологію одержання парентеральних розчинів «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg», розчинів для орального застосування на неводних розчинниках «ДГК-Р» «ДГК-Г». Розроблені технологічні параметри приготування розчинів такі як: порядок введення інгредієнтів в розчин, температурний та часовий інтервали приготування розчинів. Досліджено режим фільтрації розчину та матеріали фільтрів, які не впливають на зміну встановлених показників якості. Для парентеральних розчинів досліджені та рекомендовані режими стерилізації. Обґрунтовано доцільність проведення стерилізуючої фільтрації або стерилізація текучою парою при 100 °С протягом 30 хвилин. Досліджені види первинного пакування, що забезпечують стабільність розроблених розчинів протягом рекомендованого терміну зберігання – 2 роки. Виділені критичні точки технологічного процесу та розроблена технологічна схема.

8. Проведено фізико-хімічні дослідження розчинів. Вперше стандартизовані показники якості препарату «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл і розроблені методики їх аналізу. За результатами валідаційних досліджень доведена коректність методик ідентифікації, визначення супровідних домішок та розробленої оригінальної методики кількісного визначення. Обґрунтована специфікація та розроблено проект МКЯ на препарат відповідно до вимог ДФУ. На оральні розчини «ДГК-Р» «ДГК-Г» розроблені та зареєстровані технічні умови ТУ У 10.8-36988678-001:2013.

9. Промислова технологія парентерального розчину «ДГК-Arg» в ампулах по 5 мл на основі високоочищеного ДГК апробована на АТ «Біолік», розчину «ДГК-Meg» на АТ «Лекхім-Харків». Також були апробовані методики при контролі якості препаратів, виготовлених в умовах промислового виробництва. Результати досліджень впроваджено в навчальний процес ряду профільних кафедр вищих навчальних закладів.

Новизна проведених досліджень захищена патентами на винахід №117389 та №117075, №117076.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абделлатыф С. С., Тихомирова Н. А., Краснова И. С. Антиоксидантная активность препаратов дигидрокверцетина и гинкго билобы. *Научные инновации аграрному производству: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию юбилею Омского ГАУ*. 21 февраля 2018 г., Омск: ФГБОУ ВО Омский ГАУ. С. 1124–1126.
2. Алиментарные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний и их коррекция / Е. Н. Воробьева, М. Л. Фомичева, Р. И. Воробьев и др. *Атеросклероз*. 2015. № 1 (11). С. 68–73.
3. Андрійчук Я. Р., Давтян Л. Л. Дослідження протипухлинної дії таблеток жувальних на основі сухого екстракту вівса та кверцетина. *ScienceRise*. 2015. 7/1 (12). С. 71–73.
4. Антиоксидантные свойства биофлавоноида диквертина / О. Л. Белая, Л. М. Байдер, З. В. Куроптева, Н. Е. Артамошина *Человек и лекарство: сборник материалов XVI российского национального конгресса*. Москва 06.04-10.04.2009 г. М., 2009. С. 37.
5. Антипролиферативная и антиоксидантная активность новых производных дигидрокверцетина / В. С. Роговский, А. И. Матюшин, Н. Л. Шимановский и др. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010. № 73 (9). С. 39–42.
6. Антитромбозная активность липовертина на модели венозного тромбоза у крыс / И. С. Иванов, А. В. Сидехменова, В. И. Смольякова и др. *Фармакология*. 2010. № 11. С. 590–595.
7. Бабкин В. А., Остроухова А. А., Трофимова Н. Н. Биомасса лиственницы: от химического состава до инновационных продуктов. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2011. 236 с.
8. Белозерова И. Н., Дергачева Л. И., Скедина М. А. Комплексное исследование динамики состояния сердечно-сосудистой системы при

использовании препаратов дигидрокверцетина у больных с гипертонией. *Вестник восстановительной медицины*. 2008. № 6. С. 32–35.

9. Бизюк Л. А., Королевич М. П. Антиоксидант дигидрокверцетин: клинико-фармакологическая эффективность и пути синтеза. *Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал*. 2013. № 1 (29). С. 13–19.

10. Биологическая активность водорастворимых наноструктур дигидрокверцетина с циклодекстринами / В. П. Зинченко, Ю. А. Ким, Ю. С. Тараховский, Г. Е. Бронников. *Биофизика*. 2011. № 56. С. 433–438.

11. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцитин, корвитин, квертин) / Н. П. Максютин, А. А. Мойбенко, Н. А. Мохарт и др. К.: Наук. думка, 2012. 274 с.

12. Блинова Т. Е., Радаева И. А., Здоровцева А. Н. Бактерицидные свойства дигидрокверцетина. *Молочная промышленность*. 2008. № 4. С. 60–62.

13. Бобокало С. В., Алмакаева Л. Г. Дигідрокверцетин - препарати нового покоління. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Х., 2016. Т. 1. С. 324.

14. Бобокало С. В., Алмакаева Л. Г. Разработка способа получения раствора дигидрокверцетина. *International Trends in Science and Technology: International scientific conference «World science»*, Warsaw, Poland, October 17, 2017 p. V. 5. RS Global S. z O. O., Warsaw, Poland, 2017. С. 70–74.

15. Бобокало С. В., Алмакаева Л. Г. Дигідрокверцетин для парентерального застосування. *Управління якістю в фармації*: мат. XI науково-практична конференція з міжнародною участю, Харків, 19 травня 2017 р. Харків, 2017. С. 29.

16. Бобокало С. В., Алмакаева Л. Г. Розробка складу парентерального розчину високочистого дигідрокверцетину. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. I

міжнародна науково-практична конференція, Харків 5 квітня 2018 р. Харків, НФаУ, 2018. С. 22-23.

17. Бошкаева А. К., Сакипова З. Б., Кенжебаева А. Г. Прогнозирование биологической активности и определение реакционной способности производных дигидрокверцетина. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2013. №. 5(3). С. 36–38.

18. Бритов А. И., Апарина Т. В. Роль Капилара в коррекции метаболических нарушений у больных с атеросклерозом и артериальной гипертонией *Лечащий врач*. 2006. № 3. С. 92–95.

19. Бритов А. Н., Апарина Т. В. Роль «Капилара» (дигидрокверцетина) в коррекции гемодинамических и метаболических нарушений у больных с атеросклерозом и артериальной гипертонией. *Регионар. кровообр. и микроцирк.* 2006. № 2 (5). С. 46–53.

20. Бронников Г. Е., Кулагина Т. П., Ариповский А. В. Добавка дигидрокверцетина в пищу старым мышам приводит к восстановлению активности митохондриальных ферментов скелетной мускулатуры. *Биологические мембраны*. 2009. № 26. Р. 387–393.

21. Визначення кількісного вмісту дигідрокверцетину в добавках дієтичних. Повідомлення 2 / О. Ю. Владимиров, О. А. Здорик, П. О. Безуглий та ін. *ScienceRise*. 2016. № 4 (19). С. 4–12.

22. Вино как источник витамина Р / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. В. Ходаков, В. В. Власов. *Харчова наука і технологія*. 2012. № 3. С. 19–22.

23. Владимиров О. Ю. Розробка та стандартизація профілактичних засобів на основі рослинних джерел дигідрокверцетину: автореф. дис.....канд. фармац. наук: 15.00.03 / О. Ю. Владимиров; НФаУ. Х., 2015. 24 с.

24. Владимиров О. Ю., Гарна С. В. Розробка промислової технології комбінованого профілактичного засобу «Кардіо-Верт 3 Дигідрокверцетином». *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2012. № 4. С. 25–29.

25. Владимиров О. Ю., Гарна С. В. Створення біологічно активної добавки, що містить дигідрокверцетин. *Фармац. часопис*. 2012. № 3. С. 84–88.
26. Влияние антидисбиотических препаратов на состояние печени крыс с экспериментальным неалкогольным стеатогепатитом / А. П. Левицкий, В. Л. Васюк, Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко *Журнал Національної академії медичних наук України*. 2016. № 1 (22). С. 99–102.
27. Влияние дигидрокверцетина на тонус изолированных вен крыс / И. С. Иванов, А. В. Сидехменова, А. В. Носарев и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. № 155 (1). С. 71–72.
28. Всемирная организация здравоохранения: сердечно-сосудистые заболевания [Электронный ресурс]. – режим доступа: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
29. Гемореологические и антигипертензивные эффекты дигидрокверцетина при артериальной гипертензии у крыс / О. И. Алиев, М. Б. Плотников, А. В. Сидехменова и др. *Тромбоз, гемост. и реол.* 2016. № 3 (67). С. 42–43.
30. Губский Ю. И. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография. Винница: Нова Книга, 2015. 360 с.
31. Губський Ю. І., Юршенко Н. М. Вплив перекисного окислення на структуру сироваткових ліпопротеїдів. *Одеський медичн. журн.* 2006. № 5. С. 67–73.
32. Давтян Л. Л., Андрійчук Я. Р. Проблемні аспекти формування асортименту лікарських засобів з адаптогенною та загальнотонізуючою активністю в Україні. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4. С. 73–76.
33. Державна Фармакопея України: в 3 т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014-2015.

34. Дигидрокверцетин – альтернатива антибиотикам / Ю. Фомичёв, О. Артемьева, Д. Пересёлкова, С. Лашин. *Животноводство России*. 2015. № 7. С. 52–54.
35. Дигидрокверцетин - природный антиоксидант XXI века / Н. В. Бабий, Д. Б. Пеков, И. В. Бирик и др. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2009. № 7. С. 46–47.
36. Дигидрокверцетин (таксифолин) и другие флавоноиды как ингибиторы образования свободных радикалов на ключевых стадиях апоптоза / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурнина, Е. М. Демин и др. *Биохимия*. 2009. № 3 (74). С. 372–379.
37. Дигидрокверцетин и арабиногалактан природные биорегуляторы в жизнедеятельности человека и животных, применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: монография / Ю. П. Фомичев, Л. А. Никанова, В. И. Дорожкин и др. М.: «Научная библиотека», 2017. 702 с.
38. Дигидрокверцетин не влияет на увеличение артериального давления и активности ангиотензинпревращающего фермента в аорте гипертензивных крыс с возрастом / Г. А. Слащёва, В. А. Рыков, А. В. Лобанов и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016. № 5 (161). С. 610–614.
39. Дигидрокверцетин улучшает микроваскуляризацию и микроциркуляцию в коре головного мозга крыс линии shr в период развития артериальной гипертензии / М. Б. Плотников, О. И. Алиев, А. В. Сидехменова и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017. № 1 (163). С. 69–72.
40. Диквертин – эффективный ингибитор агрегации тромбоцитов флавоноидной природы / А. А. Кубатиев, З. Т. Ядигарова, И. А. Рудько и др. *Вопр. биол. медиц. фарм. химии*. 1999. № 3. С. 47–51.
41. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів для місцевого застосування при хронічній венозній недостатності / О. В. Лукієнко, Г. І. Квітчата, Д. В. Оклеї, С. В. Плис. *Актуальні питання фармацевтичної і*

медичної науки та практики. 2014. №3 (16). С.102–105.

42. Дрюцкая С. М., Толстенок И. В. Дигидрокверцетин: применение в производстве безалкогольных напитков. *Потребительский рынок XXI века: стратегии, технологии, инновации*: материалы III Международной научно-практической конференции. Хабаровский государственный университет экономики и права. 2017. С. 123–127.

43. Зверев Я. Ф. Антитромботическая активность флавоноидов. *Растительные ресурсы*. 2018. № 2 (54). С. 171–189.

44. Зверев Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2017. № 4 (15). С. 5–13.

45. Зверев Я. Ф., Брюханов В. М. Флавоноиды как перспективные природные антиоксиданты. *Бюллетень медицинской науки*. 2017. № 1 (5). С. 20–27.

46. Здорик О. А., Наконечна І. Ю., Георгіянц В. А. Пошук альтернативних природних джерел дигідрокверцетину. *Хімія природних сполук*: III Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 30–31 жовт. 2012 р. Тернопіль, 2012. С. 20–21.

47. Игуменьцева В. В., Юшков Г. Г. К обоснованию исследования токсикологических и терапевтических свойств дигидрокверцетина. *Сборник научных трудов Ангарского государственного технического университета*. 2007. № 1 (1). С. 199–203.

48. Изменение артериального давления после воздействий, увеличивающих активность ангиотензин-превращающего фермента, и нормализации активности дигидрокверцетином у самцов крыс Вистар / А. Ф. Корыстова, Л. Н. Кублик, М. Х. Левитман и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018. № 7 (166). С. 36–40.

49. Изучение биологической активности природных антиоксидантов / А. В. Милованова, Е. Н. Офицеров, А. В. Сидоров, М. П. Коротеев. *Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики*

инфекционных и онкологических заболеваний: сборник трудов конференций молодых ученых, 2014–2018 гг., г. Москва. Киров, 2019. С. 69–75.

50. Изучение технологических свойств дигидрокверцетина / И. А. Радаева, А. Г. Галстян, С. Н. Туровская, Е. Е. Илларионова. *Молочная промышленность*. 2017. № 3. С. 67–68.

51. Исаев В. А., Ершов А. А., Сергеев В. Н. Новые возможности вторичной профилактики метаболического синдрома природными антиоксидантами. *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сборник научных трудов*. Москва, 2016. С. 182–186.

52. Исследование и оптимизация реакции комплексообразования ионов марганца (II) с дигидрокверцетином в водной среде / Е. В. Столповская, Н. Н. Трофимова, В. А. Бабкин и др. *Химия растительного сырья*. 2020. № 3. С. 47–56.

53. Исследование противовирусной активности дигидрокверцетина в процессе репликации вируса Коксаки В4 in vitro / А. В. Галочкина, В. В. Зарубаев, О. И. Киселев и др. *Вопросы вирусологии*. 2016. № 61 (1). С. 27–31.

54. К вопросу глобального бремени болезней в Украине / А. Н. Дзюба, Л. Н. Пазинич, Е. Р. Ситенко, Е. Н. Кривенко. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*. 2017. № 2 (72). С. 8–13.

55. Комплексная медицинская реабилитация больных инфарктом миокарда в функционально-восстановительном периоде с включением биофлавоноидов / А. М. Щегольков, В. П. Ярошенко, А. В. Шакула и др. *Лечащий врач*. 2010. № 4. С. 77–81.

56. Корнацький В. М. Серцево-судинна захворюваність в Україні та рекомендації щодо покращення здоров'я в сучасних умовах. Аналітично-статистичний посібник. К., 2012. с. 52.

57. Корнацький В. М., Сілантьєва О. В. Серцево-судинні захворювання і шкідливі екологічні чинники. *Український кардіологічний журнал*. 2013. № 3. С. 109–116.

58. Коррекция гемореологических расстройств при остром инфаркте

миокарда у крыс комплексом диквертина и аскорбиновой кислоты / М. Б. Плотников, М. Ю. Маслов, О. И. Алиев и др. *Вопр. биол. медиц. фарм. химии*. 2000. № 2. С. 31–33.

59. Костыря О. В., Корнеева О. С. О перспективах применения дигидрокверцетина при производстве продуктов с пролонгированным сроком годности. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2015. № 4 (66). С. 165–170.

60. Костюк В. А., Потапович А. И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск, 2004. 174 с.

61. Костюк В. А., Потапович А. И. Структура, классификация и фармакологические свойства природных полифенольных антиоксидантов. *Свободные радикалы в химии и жизни: сб. тез. докл. Междунар. конф.*, Минск, 25-26 июня 2015 г. Минск, 2015. С. 14–16.

62. Краснюк И. И., Михайлова Г. В., Валиев С. А. Фармацевтическая технология: Технология лекарственных форм. М: Academia, 2004. 592 с.

63. Кудрявцева Е. Н., Головина А. А. Применение дигидрокверцетина в пищевой промышленности. *Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства*. 2018. № 20. С. 269–271.

64. Куркин В. А., Куркина А. В., Авдеева Е. В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений. *Фундаментальные исследования*. 2013. № 11-9. С. 1897–1901.

65. Куркин В. А., Поройков В. В. Фенилпропаноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной и иммуномодулирующей активности. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 2-2. С. 493.

66. Куркина А. В. Флавоноиды фармакопейных растений: Монография. Самара: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. 290 с.

67. Лаптева К. И., Луцкий В. И., Тюкавкина Н. А. Некоторые флавоны и флавонолы ядреной древесины *Larix dahurica*. *Химия природных*

соединений, 1974. № 1. С. 97–98.

68. Литература и научные статьи. информация для специалистов и врачей. Режим доступа: <https://flavitaх.jimdo.com/антиоксиданты-и-флавоноиды-в-жизни-человека/литература-и-научные-статьи-для-специалистов-и-врачей/> (дата звернення 20.03.2019).

69. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): Настанова СТ Н МОЗУ 42-3.0:2011 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2012. 35 с.

70. Макарова М. Н., Макаров В. Г. Молекулярная биология флавоноидов. Руководство для врачей. Санкт-Петербург: Лема, 2010. 428 с.

71. Мельникова Н. Б., Иоффе И. Д. Взаимодействие дигидрокверцетина с ионами металлов в водных растворах их солей и в изотонических медицинских средах. *Химия растительного сырья*. 2001. № 4. С. 25–33.

72. Меньшикова Е. Б., Ланкин В. З., Кандалинцева Н. В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине: строение, свойства, механизмы действия. Saarbrücken: Lambert AP, 2012. 488 с.

73. Механизмы гипотензивного действия дигидрокверцетина при артериальной гипертензии / М. Б. Плотников, О. И. Алиев, А. В. Сидехменова и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016. № 9 (162). С. 338–341.

74. Михейцева И. Н., Пасечникова Н. В. Флавоноиды в офтальмологии – новая стратегия фармакологического воздействия (обзор литературы и собственных исследований). *Журнал Національної академії медичних наук України*. 2015. № 21 (1). С. 45–53.

75. Моисеева Е. В., Валевко С. А., Шилова С. В. Проблема загрязнения механическими включениями лекарственных средств для парентерального применения. *Фармация*. 2002. № 4. С. 44–47.

76. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководства по качеству. Рекомендации PIC/S / под. ред. Н. А. Ляпунова,

В. А. Загория, В. П. Георгиевского, Е. П. Безуглой. К.: МОРИОН, 2001. 472 с.

77. Наказ МОЗ України № 1073 від 03.09.2017 р. «Про затвердження Норм фізіологічних потреб населення України в основних харчових речовинах і енергії». Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1206-17> (дата звернення 20.03.2019).

78. Настанови з якості. Лікарські засоби. Валідація процесів: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.5:2016 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2016. 25 с.

79. Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.3:2004 / В. Георгієвський та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2004. 68 с.

80. Настанови з якості. Лікарські засоби. Виробництво готових лікарських засобів: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.4:2004 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2004. 16 с.

81. Настанови з якості. Лікарські засоби. Допоміжні речовини: Настанова 42-3.6:2004 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2004. 18 с.

82. Настанови з якості. Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.2:2004 / В. Георгієвський та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2004. 44 с.

83. Настанови з якості. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.1:2004 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. К.: МОЗ України, 2004. 22 с.

84. Никанова Л. А., Фомичев Ю. П. Биопротекторное действие дигидрокверцетина и арабиногалактана в ослаблении влияния экстремальных факторов среды на организм свиней. *Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства*. 2016. № 2 (5). С. 89–96.

85. Новый межгосударственный стандарт на антиокислитель дигидрокверцетин / И. А. Радаева, А. Г. Галстян, С. Н. Туровская и др. *Молочная промышленность*. 2016. № 4. С. 57–59.

86. Омарова Р. А., Бошкаева А. К., Рахимбаев Э. Виртуальный скрининг фармакологической активности и токсичности новых препаратов, производных дигидрокверцетина. *XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии*: материалы докладов, г. Екатеринбург, 26-30 сентября 2016 г. Екатеринбург, 2016. С. 530–530.

87. Оценка растворимости дигидрокверцетина в нейтральных и слабокислых растворах / В. Л. Бутуханов, Р. С. Ломанов, С. В. Чеченина, С. Е. Флюг. *Символ науки*. 2016. № 8 (2). С. 41–44.

88. Пат. 1238677 ЕВП, МПК А61К47/18. Parenteral fat emulsions comprising edetate as preservative/ Z.B. Astra, C. Jones, J.H. Platt; № 02009330.8; Заявл. 17.03.1995; Оpubл. 11.09.2002.

89. Пат. № 2038094, RU, C1, А61К35/78, C07D311/321. Способ получения дигидрокверцетина / Тюкавкина Н. А., Наумов В. В., Колесник Ю. А., Руленко И. А., Ручкин В. Е., Гаврилова Т. Ф., Наумов О. В. № 94002793/14; Заявл. 94002793/14; Оpubл. 27.06.1995.

90. Пат. № 2180566, RU, C1. Способ выделения дигидрокверцетина / Нифантьев Э. Е., Коротеев М. П., Казиев Г. З, Уминский А. А. № 001101592/14, Заявл. 2001101592/14; Оpubл. 20.03.2002.

91. Пат. № 2305939, RU, C1. Способ получения биологически активного препарата из древесины лиственницы / Чекуров В. И., Хан В. А, Козлов В. Е. № 2005141744/15, Заявл. 2005141744/15; Оpubл. 20.09.2007.

92. Пат. № 2386624, RU, C2. Способ получения дигидрокверцетина из отходов лесозаготовки и лесопереработки лиственницы / Кершенгольц Б. И., Шашурин М. М, Хлебный Е. С., Шеин А. А., Журавская А. Н., Ломовский О. И., Жуков М. А. № 2007142814/13; Заявл. 2007142814/13; Оpubл. 20.04.2010.

93. Пат. RU 2545905 C1. Водорастворимая фармацевтическая

композиция L-аргинин-дигидрокверцетин и способ ее получения / А.М. Коротеев, Г.З. Казиев, М.П. Коротеев, В.П. Зинченко и др. Оpubл.: 10.04.2015. Бюл. № 10.

94. Патент RU №2396077 С1. Водорастворимое комплексное соединение включения дигидрокверцетино- циклодекстрин и способ его получения / Коротеев А. М., Казиев Г.З., Коротеев М. П., Нифантьев Э. Е., Шутов В. М. Оpubл. 10.08.2010. Бюл. № 22.

95. Пахомов В. П., Горошко О. А. Антиоксидантная активность субстанции дигидрокверцетина различной чистоты. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010. № 9. С. 52–54.

96. Плотников М. Б., Тюкавкина Н. А., Плотникова Т. М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Изд. Том. ун-та. 2005. 248 с.

97. Повышение биоактивности дигидрокверцетина на основе ультразвуковой микронизации / И. В. Калинина, И. Ю. Потороко, Р. И. Фаткуллин и др. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2019. № 1 (54). С. 27–33.

98. Повышение эффективности медицинской реабилитации больных ишемической болезнью сердца при применении дигидрокверцетина / А. М. Шегольков, А. В. Шакула, В. В. Сычев, Л. И. Дергачева. *Вестник восстановительной медицины*. 2009. № 6. С. 71–74.

99. Поиск и изучение средств растительного происхождения, обладающих гемореологической активностью / М. Б. Плотников, О. И. Алиев, М. Ю. Маслов и др. *Тромбоз, гомеостаз и реология*, 2000. № 3. С. 32–35.

100. Полова Ж. М., Алмакаева Л. Г. Вплив кисню повітря на стабільність препарату на основі срібла цитрату в ампулах. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2018. № 29. С. 393–402.

101. Прида А. И., Иванова Р. И. Природные антиоксиданты полифенольной природы (антирадикальные свойства и перспективы

использования). *Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки*. 2004. № 2. С. 76–78.

102. Применение дигидрокверцетина в комплексной медицинской реабилитации больных ишемической болезнью сердца на госпитальном и амбулаторно-поликлинических этапах / А. М. Щегольков, В. П. Ярошенко, В. И. Некрасов и др. *Consilium medicum*. 2008. № 12. С. 44–48.

103. Применение дигидрокверцетина в комплексном лечении гипертонической болезни / А. Щегольков, Л. Дергачева, А. Шакула и др. *Врач*. 2008. № 4. С. 42–46.

104. Пролиферативные, анаболические и свободнорадикальные процессы в организме белых крыс после введения дигидрокверцетина / Е. Н. Сазонова, Д. В. Яковенко, Н. В. Самохвалов и др. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2018. № 1. С. 92–96.

105. Радикал-улавливающая активность флавоноидов: компьютерное моделирование и экспериментальные данные / И. Р. Ильясов, В. В. Кадочников, В. Л. Белобородов, Ю. Б. Порозов. *Фенольные соединения: свойства, активность, инновации*: Сборник научных статей по материалам X Международного симпозиума. М., 2018. С. 83–86.

106. Растительные флавоноиды. К связи строения и свойств на примере кверцетина и дигидрокверцетина / Е. Н. Офицеров, А. В. Каратаева, И. Н. Соловьева, С. Н. Сергеева. *Микроэлементы и регуляторы роста в питании растений: теоретические и практические аспекты*: материалы Межд. научно-практ. конф. Ульяновск. 2014. С. 85–92.

107. Решетник Е. И. Обоснование и разработка технологии производства пищевых продуктов с применением дигидрокверцетина. *Вестник Дальневосточного государственного аграрного университета*. 2007. № 1. С. 135–137.

108. Роговский В. С., Матюшин А. И., Шимановский Н. Л. Перспективы применения препаратов кверцетина для профилактики и лечения атеросклероза. *Международный медицинский журнал*. 2011. № 3 (17). С.

114–118.

109. Рогожин В. В., Перетолчин Д. В., Рогожина Т. В. Исследование физико-химических свойств дигидрокверцетина. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2012. № 1 (2). С. 68–74.

110. Розробка методики кількісного визначення дигідрокверцетину. Повідомлення 1 / О. Ю. Владимиров, О. А. Здорик, В. А. Георгіянц та ін. *ScienceRise*. 2016. № 4 (18). С. 36–41.

111. Розробка складу лікарського засобу на основі мелоксикаму / Л. Г. Алмакаєва, Л. Г. Науменок, Н. В. Бегунова та ін. *Вісник фармації*. 2013. № 3. С. 31–35.

112. Санітарно-епідеміологічні правила і нормативи СанПіН 2.3.2. 1293-03 «Гігієнічні вимоги щодо застосування харчових добавок».

113. Санітарно-епідеміологічні правила і нормативи СанПіН 2.3.2.1078-01 «Гігієнічні вимоги безпеки і харчової цінності харчових продуктів».

114. Сидельковская Ф. П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров. Издательство Наука. 1970. С. 150.

115. Синтез и цитотоксическая активность ацилпроизводных дигидрокверцетина / Э. Е. Нифантьев, А. О. Коротеев, А. О. Поздеев и др. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015. № 2 (49). С. 8–11.

116. Синтез, антиоксидантная и цитотоксическая активность новых производных дигидрокверцетина / В. В. Князев, В. С. Роговский, Е. Д. Свешникова и др. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018. № 3. С. 17–20.

117. Скедина М. А., Белозерова И. Н., Верулашвили Л. А. Использование дигидрокверцетина в комплексном лечении пациентов с артериальной гипертонией и нейроциркуляторной дистонией. *Справочник поликлинического врача*. 2008. №. 11. С. 46–52.

118. Сравнительная оценка реакционной способности кверцетина и дигидрокверцетина по отношению к пероксильным радикалам / И. Г. Конкина, С. А. Грабовский, Ю. Муринов, Н. Н. Кабальнова. *Химия растительного сырья*. 2011. № 3. С. 207–208.

119. Сравнительная фармакокинетика дигидрокверцетина у крыс после введения внутрь в виде субстанции и липосомального препарата фламена D / В. П. Жердев, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин и др. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010. № 73 (1). С. 23–25.
120. Сырчина А. И., Воронков М. Г., Тюкавкина Н. А. Нарингенин, дигидрокемпферол, дигидрокверцетин. *Химия природ. соединений*. 1975. № 3. С. 424–425.
121. Тарасова Е. А. Применение нового антиоксидантного препарата Диквертина в лечении больных с ишемической болезнью сердца. *Практическая фитотерапия*. 1999. № 1. С. 37–41.
122. Теренда Н. О. Смертність від серцево-судинних захворювань як державна проблема. *Вісник наукових досліджень*. 2015. № 4. С. 11–13.
123. Терехов Р. П., Селиванова И. А. Фрактальный анализ лиофилизированных форм дигидрокверцетина. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018. № 3 (21). С. 17–21.
124. Технология и стандартизация лекарств / под ред. В. П. Георгиевского, Ф. А. Конева. Харьков.: ООО РИРЕГ, 1996. 784 с.
125. ТОВ «Таксифолія». Режим доступу: <https://taxifolia.ua> (дата звернення 20.03.2019).
126. Тутельян В. А., Лашнева Н. В. Биологически активные вещества растительного происхождения. Флавонолы и флавоны: распространенность, пищевые источники, потребление. *Вопр. питания*. 2013. № 1 (82). С. 4–22.
127. Тюкавкина Н. А., Лаптева К. И., Медведева С. А. Фенольные экстрактивные вещества рода *Larix*. *Химия древесины*. 1973. № 13. С. 3–17.
128. Тюкавкина Н. А., Шостаковский М. Ф., Девятко Н. Г. О распределении флавоноидов в древесине сибирской лиственницы, *Известия СО АН. Серия биологические науки*. 1969. № 15. С. 77–83.
129. Уминский А. А., Хавстеен Б. Х., Баканёва В. Ф. Биохимия флавоноидов. М.: Фотон-век, 2007. 262 с.
130. Фармацевтический сектор: Общий технический документ для

лицензирования лекарственных средств в ЕС / В. А. Усенко и др.; под ред. А. В. Стефанова и др. К.: МОРИОН, 2002. 256 с.

131. Филимонова С. А., Молянова Г. В. Применение антиоксиданта Дигидрокверцетин в служебном собаководстве. *Инновационные достижения науки и техники АПК: сборник научных трудов*. Кинель: РИО СГСХА, 2017. С. 63–66.

132. Флавоноиды – антиоксидантная защита организма / О. Г. Щукина, Г. Г. Юшков, В. В. Игуменьцева, Н. А. Малышкина. *Вестник Ангарского государственного технического университета*. 2008. № 2 (1). С. 76–78.

133. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров [отв. ред. Е. И. Маевский]. Пущино: Synchronobook, 2013. 310 с.

134. Фомичев Ю. П. Флавоноид-дигидрокверцетин в питании человека и животных, сохранности продукции сельского хозяйства. *Эффективное животноводство*. 2018. № 4 (143). С. 58–60.

135. Фомичев Ю. П., Никанова Л. А., Лашин С. А. Дигидрокверцетин и арабиногалактан природные биорегуляторы, применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. *Вестник Мичуринского государственного аграрного университета*. 2018. № 3. С. 21–32.

136. Харченко Ю. А., Дмитриев В. Н. Перспективная биологически активная добавка с антиоксидантным действием. *Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы*. 2016. № 3. С. 61–65.

137. Химическая модификация дигидрокверцетина (таксифолина) и биологическая активность его производных / М. П. Коротеев, А. О. Поздеев, А. М. Коротеев и др. *Бутлеровские сообщения*. 2014. № 10 (39). С. 94–120.

138. Химическая модификация и биологическая активность флавоноида дигидрокверцетина / Э. Е. Нифантьев, М. П. Коротеев, Т. С. Кухарева и др. *Наука и школа*. 2012. № 6. С. 181–191.

139. Черняк Ю. И., Щукина О. Г. Состояние процессов пероксидации у крыс в отдаленном периоде после хронического введения

дигидрокверцетина. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2009. № 5 (147). С. 532–535.

140. Четыркин Е. М. Статистические методы прогнозирования. М.: Статистика, 2010. 199 с.

141. Шелковская О. В., Иванов В. Е., Карп О. Э. Дигидрокверцетин уменьшает концентрацию перекиси водорода и гидроксильных радикалов, индуцированных рентгеновским излучением. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 3. С. 571.

142. Шелковская О. В., Карп О. Э., Иванов В. Е. Дигидрокверцетин проявляет генопротекторные и радиопротекторные свойства. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 6. С. 609.

143. Экспериментальное исследование эффективности дигидрокверцетина на модели хронического абактериального воспаления предстательной железы / Т. Г. Боровская, С. И. Камалова, М. Е. Полуэктова и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017. № 11 (164). С. 570–572.

144. Якубке Х. Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки. Москва: Мир, 1985. 455 с.

145. Ялаев Б. И. Дигидрокверцетин в роли ингибитора α -амилазы. *Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании: тезисы докладов IX Международной школы-конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых*. 28 сентября – 1 октября 2016, м. Казань. С. 400.

146. Яшин Я. И., Веденин А. Н., Яшин А. Я. Лекарственные препараты, лекарственные растения и БАДы с антиоксидантной активностью. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2017. №. 3 (17). С. 496–505.

147. A highly sensitive and robust UPLC-MS with electrospray ionization method for quantitation of taxifolin in rat plasma / X. Wang, H. Xia, F. Xing et al. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2009. Vol. 877. P. 1778–1786.

148. A systematic review of the efficacy of bioactive compounds in

cardiovascular disease: phenolic compounds / O. D. Rangel-Huerta, B. Pastor-Villaescusa, C. M. Aguilera, A. Gil. *Nutrients*. 2015. Vol. 7. P. 5177–5216.

149. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O. E. Schulz / M. D. Lucas-Filho, G. C. Silva, S. F. Cortes et al. *Phytomedicine*. 2010. Vol. 17. P. 383–387.

150. Antinociceptive and anti-oedematogenic properties of astilbin, taxifolin and some related compounds / V. Cechinel-Filho, Z. R. Vaz, L. Zunino et al. *Arzneimittelforschung*. 2000. Vol. 50. P. 281–285.

151. Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship / Fevzi Topal, Meryem Nar, Hulya Gocer et al. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 31 (4). P. 1–10.

152. Antiplatelet effects of flavonoids mediated by inhibition of arachidonic acid-based pathway / J. Karlickova, M. Riha, T. Filipisky et al. *Planta Med*. 2016. Vol. 82. P. 76–83.

153. Argawal P. K., Schneider H. J. Deprotonation-induced ¹³C NMR shifts in phenols and flavonoids. *Tetrahedron Letters*. 1983. Vol. 24. P. 177–180.

154. Astilbin inhibits the adhesion of T-lymphocytes via decreasing TNF- α and its associated MMP-9 activity and CD-44 expression / H. W. Yi, X. M. Lu, F. Fang et al. *Int. Immunopharmacol*. 2008. Vol. 8. P. 1467–1474.

155. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes /L. Aguirre, N. Arias, M. T. Macarulla et al. *Open Nutraceuticals J*. 2011. Vol. 4. P.189–198.

156. Biological activity of water-soluble nanostructures of dihydroquercetin with cyclodextrins / V. P. Zinchenko, Y. A. Kim, G. E. Bronnikov, Y. S. Tarakhovskii. *Biophysics*. 2011. Vol. 3 (56). P. 418–422.

157. Biotransformation of (+)-catechin into taxifolin by a two-step oxidation: primary stage of (+)-catechin metabolism by a novel (+)-catechin-degrading bacteria, *Burkholderia* sp. KTC-1, isolated from tropical peat / M. Matsuda, Y. Otsuka, S. Jin et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2008. Vol. 366. P. 414–419.

158. Cardioprotective effects of dihydroquercetin against ischemia reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and endoplasmic reticulum stress-

induced apoptosis via the PI3K/Akt pathway / Zunpeng Shu, Yanni Yang, Liu Yang et al. *Food Funct.* 2019. Vol. 10. P. 203–215.

159. Cespedes E. M., Hu F. B. Dietary patterns: from nutritional epidemiologic analysis to national guidelines. *Am J Clin Nutr.* 2015. Vol. 101 (5). P.899–900.

160. Characterization and quantification of taxifolin related flavonoids in *Larix olgensis henry var. Koreana nakai* extract analysis and its antioxidant activity assay / S. Zhou, Y. Shao, Y. Zheng, J. Fu et al. *International Journal of Pharmacology.* 2018. Vol. 4 (14). P. 534–545.

161. Chen Y., Deuster P. Comparison of quercetin and dihydroquercetin: Antioxidant-independent actions on erythrocyte and platelet membrane. *Chem. Biol. Interact.* 2009. Vol. 182. P. 7–12.

162. Chirumbolo S. The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function. *Inflamm. Allergy Drug Targets.* 2010. Vol. 9. P. 263–285.

163. Cockcroft S., Raghu P. Phospholipid transport protein function at organelle contact sites. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2018. Vol. 53. P.52–60.

164. Combination of quercetin and Adriamycin effectively suppresses the growth of refractory acute leukemia / Yingxu Shi, Xiaotian Su, Hongwei Cui et al. *Oncol Lett.* 2019. Vol. 18 (1). P.153–160.

165. Comparative mutagenic effects of structurally similar flavonoids quercetin and taxifolin on tester strains *Salmonella typhimurium* TA102 and *Escherichia coli* WP-2 uvrA / P. S. Makena, S. C. Pierce, K. T. Chung, S. E. Sinclair. *Environ. Mol. Mutagen.* 2009. Vol. 50. P. 451–459.

166. Davis J. M., Murphy E. A., Carmichael M. D. Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health. *Curr. Sports Med. Rep.* 2009. Vol. 38. P. 206–213.

167. Demrow H. S., Slane P. S., Folts J. D. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine arteries. *Circulation.* 1995. Vol. 91. P. 1182–1188.

168. Determination and pharmacokinetic study of taxifolin in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography / O. N. Pozharitskaya, M. V. Karlina, A. N. Shikov et al. *Phytomedicine*. 2009. Vol. 16. P. 244–251.
169. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study / M. G. Hertog, E. J. Feskens, P. C. Hollman et al. *Lancet*. 1993. Vol. 342. P. 1007–1011.
170. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study / S. O. Keli, M. G. Hertog, E. J. Feskens, D. Kromhout. *Arch. Intern. Med.* 1996. Vol. 156. P. 637–642.
171. Dihydroquercetin (DHQ) ameliorated concanavalin A-induced mouse experimental fulminant hepatitis and enhanced HO-1 expression through MAPK/Nrf2 antioxidant pathway in RAW cells / M. Zhao, J. Chen, P. Zhu et al. *Int. Immunopharmacol.* 2015. Vol. 28 (2). P. 938–944.
172. Dihydroquercetin (DHQ) induced HO-1 and NQO1 expression against oxidative stress through the Nrf2-dependent antioxidant pathway / L. Liang, C. Gao, M. Luo et al. *J. Agric. Food Chem.* 2013. Vol. 61 (11). P. 2755–2761.
173. Dihydroquercetin does not affect age-dependent increase in blood pressure and angiotensin-converting enzyme activity in the aorta of hypertensive rats / G. A. Slashcheva, V. A. Rykov, A. V. Lobanov et al. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. Vol. 161. P. 670.
174. Dihydroquercetin: known antioxidant-new inhibitor of alpha-amylase activity / R. A. Zaynullin, R. V. Kunakova, E. K. Khusnutdinova et al. *Medicinal Chemistry Research*. 2017. Vol. 27 (3). P. 966–971.
175. Doralicia Casares, Pablo V. Escribá, Catalina Ana Rosselló. Membrane Lipid Composition: Effect on Membrane and Organelle Structure, Function and Compartmentalization and Therapeutic Avenues. *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 20 (9). P. 2167.
176. Du Q., Li L., Jerz G. Purification of astilbin and isoastilbin in the extract of smilax glabra rhizome by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A*. 2005. Vol. 1077. P. 98–101.

177. Effects of taxifolin on the activity of angiotensin-converting enzyme and reactive oxygen and nitrogen species in the aorta of aging rats and rats treated with the nitric oxide synthase inhibitor and dexamethasone / T. V. Arutyunyan, A. F. Korystova, L. N. Kublik et al. *Age (Dordr)*. 2013. Vol. 35 (6). P. 2089–2097.
178. Endothelial function impairment in chronic venous insufficiency: effect of some cardiovascular protectant agents / O. F. Carrasco, A. Ranero, E. Hong, H. Vidrio. *Angiology*. 2009. Vol. 60 (6). P. 763–771.
179. Escribá P. V. Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine. *Trends Mol. Med*. 2006. Vol. 12. P. 34–43.
180. Extraction of Dihydroquercetin from *Larix gmelinii* with Ultrasound-Assisted and Microwave-Assisted Alternant Digestion / Chunhui Ma, Lei Yang, Wenjie Wang et al. *Int. J. Mol. Sci*. 2012. Vol. 13. P. 8789–8804.
181. Flavone improves functional recovery after ischemia in isolated reperfused rabbit hearts / X-H. Ning, X. Ding, K. F. Childs et al. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 1993. Vol. 105. P. 541–549.
182. Flavonoid classes and risk of peripheral arterial occlusive disease: a case-control study in Greece / P. Lagiou, E. Samoli, A. Lagiou et al. *Eur. J. Clin. Nutr*. 2006. Vol. 60. P. 214–219.
183. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults / M. L. McCullough, J. J. Peterson, R. Patel et al. *Am. J. Clin. Nutr*. 2012. Vol. 95. P. 454–464.
184. Flavonoid intake and risk of ischaemic stroke and CVD mortality in middle aged Finnish men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study / J. Mursu, S. Voutilainen, T. Nurmi et al. *Br. J. Nutr*. 2008. Vol. 100. P. 890–895.
185. Flavonoids in Health and Disease / K. K. Carroll, N. Guthrie, F. V. So, A. F. Chambers Eds. L. Packer. New York, 1998. P. 437–446.
186. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications / Edited by Oyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham. Boca Raton; London; New York: CRC Press Taylor & Francis Group, 2006. 1197 p.
187. Fomichev Yu. P. Flavonoid dihydroquercetin in nutrition of man and

animals, safety of agricultural products. *Agricultural Research and Technology: Open Access Journal*. 2018. Vol. 15 (1). P. 1–5.

188. Ford E. S., Capewell S. Proportion of the decline in cardiovascular mortality disease due to prevention versus treatment: public health versus clinical care. *Annu Rev Public Health*. 2011. Vol. 32. P. 5–22.

189. Galinski C. N., Zwicker J. I., Kennedy D. R. Revisiting the mechanistic basis of the French Paradox: Red wine inhibits the activity of protein disulfide isomerase in vitro. *Thromb. Res*. 2016. Vol. 137. P. 169–173.

190. Galkina Elena, Ley Klaus. Vascular Adhesion Molecules in Atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2007. Vol. 1. P. 2292–2301.

191. Garcia-Gil M., Albi E. Nuclear Lipids in the Nervous System: What they do in Health and Disease. *Neurochem. Res*. 2017. Vol. 42. P. 321–336.

192. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017. № 390 (10100). P. 1211–1259.

193. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015 / G. A. Roth, C. Johnson, A. Abajobir et al. *J Am Coll Cardiol*. 2017. Vol. 70 (1). P. 1–25.

194. Grassi D., Desideri G., Ferri C. Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. *Nutrients*. 2010. Vol. 2 (8). P. 889–902.

195. Halliwell B. Antioxidants characterization: methodology and mechanism. *Biochem. Pharmacol*. 1995. Vol. 49. P. 1341–1348.

196. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*. 2012. Vol. 70 (5). P. 257–265.

197. Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet*. 2000. Vol. 355. P. 1179–1180.

198. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine.

5th ed. Oxford: Clarendon Press, 2015. 896 p.

199. Hodge A., Bassett J. What can we learn from dietary pattern analysis? *J. Public Health Nutr.* 2016. Vol. 19 (2). P. 191–194.

200. Immunosuppressive effect of quercetin on dendritic cell activation and function. / R. Y. Huang, Y. L. Yu, W. C. Cheng et al. *J. Immunol.* 2010. Vol. 184. P. 6815–6821.

201. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae) / F. Petacci, S. S. Freitas, I. L. Brunetti, N. M. Khalil. *Biol. Res.* 2010. Vol. 43. P. 63–74.

202. Insights into dietary flavonoids as molecular templates for the design of anti-platelet drugs / B. Wright, J. P. E. Spencer, J. A. Lovegrove, J. M. Gibbins. *Cardiovasc. Res.* 2013. Vol. 97. P. 13–22.

203. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands / M. G. L. Hertog, P. C. H. Hollman, M. B. Katan, D. Kromhout *Nutr. Cancer.* 1993. Vol. 20. P. 21–29.

204. Kharchenko A., Kharchenko Yu. The beneficial properties of flavonoids larch. *Інтернаука.* 2018. № 1 (35). С. 51–54.

205. Kurth E. F., Chan F. L. Extraction of tannin and dihydroquercetin from Douglas-fir bark. *J. Amer. Leather Chem. Assoc.* 1953. Vol. 48 (1). P. 20–32.

206. Lange Y., Steck T. L. Active membrane cholesterol as a physiological effector. *Chem. Phys. Lipids.* 2016. Vol. 199. P. 74–93.

207. Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot development / N. Landrault, F. Larronde, J. C. Delaunay et al. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. P. 2046–2052.

208. Martindale – the complete drug reference. - 33 ed. - London: Pharmaceutical Press, 2002.

209. Membrane lipid therapy: Modulation of the cell membrane composition and structure as a molecular base for drug discovery and new disease treatment. / P. V. Escribá, X. Busquets, J. Inokuchi et al. *Prog. Lipid Res.* 2015. Vol. 59. P.38–

53.

210. Modes of hypotensive action of dihydroquercetin in arterial hypertension / M. B. Plotnikov, O. I. Aliev, A. V. Sidekhmenova et al. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017. Vol. 162 (3). P. 353–356.

211. Modulation of hepatic lipoprotein synthesis and secretion by taxifolin, a plant flavonoid / A. Theriault, Q. Wang, S. C. Van Iderstine et al. *J. Lipid Res*. 2000. Vol. 41. P. 1969–1979.

212. Nandave M., Ojha S. K, Arya D. S. Protective role of flavonoids in cardiovascular diseases. *NPR*. 2005. Vol. 4 (3). P. 166–176.

213. Nanoparticle-delivered quercetin for cancer therapy / K. Men, X. Duan, X. W. Wei et al. *Anticancer Agents Med Chem*. 2014. Vol. 14 (6). P. 826–832.

214. Novel insights into the pharmacology of flavonoids / B. Romano, E. Pagano, V. Montanaro et al. *Phytother. Res*. 2013. Vol. 27 (11). P. 1588–1596.

215. Official Journal of the European Union. L 295/1. EN. 14. 11. 2017. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2017:295:FULL&from=DE>

216. Outtrup H., Schaumburg K., Madsen J. Isolation of dihydromyricetin and dihydroquercetin from bark of *Pinus contorta*. *Carlsberg Research Communications*. 1985. Vol. 50. P. 369–379.

217. Permeation of astilbin and taxifolin in Caco-2 cell and their effects on the P-gp. / X. D. Wang, M. X. Meng, L. B. Gao et al. *Int. J. Pharm*. 2009. Vol. 378. P. 1–8.

218. Pharmacokinetics and metabolism of Dihydroquercetin isolated from *Larix sibirica Ledeb* / V. Zherdev, G. Kolyvanov, A. Litvin et al. *Planta Med*. 2008. Vol. 74. P. 331.

219. Polymeric micelles: a ray of hope among new drug delivery systems / A. Kapse, N. Anup, V. Patel et al. *Drug Delivery Systems*. 2020. Vol. 2. P. 235–289.

220. Prevention of macrophage adhesion molecule-1 (Mac-1)-dependent neutrophil firm adhesion by taxifolin through impairment of protein

kinase-dependent NADPH oxidase activation and antagonism of G protein-mediated calcium influx / Y.-H. Wang, W.-Y. Wang, J.-F. Liao et al. *Biochem. Pharmacol.* 2004. Vol. 67. P. 2251–2262.

221. Probst Y., Guan V., Kent K. A systematic review of food composition tools used for determining dietary polyphenol intake in estimated intake studies. *Food Chem.* 2018. Vol. 1 (238). P. 146–152.

222. Protective effect of dihydroquercetin on acute myocardial ischemia induced by isoproterenol in rats / Q. H. Wang, H. X. Kuang, L. Wu et al. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae.* 2011. Vol. 17 (17). P. 177–180.

223. Protective effects of astilbin on renal ischemia-reperfusion injury in rats / S. H. Song, X. Y. Shen, F. Liu et al. *Zhong. Xi. Yi. Jie. He. Xue. Bao.* 2009. Vol. 7. P. 753–757.

224. Quercetin and its analogues: optical and acido–basic properties /M. Biler, D. Biedermann, K. Valentová et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017. Vol. 19 (39). P. 26870–26879.

225. Quercetin pharmacokinetics in humans. / Y. J. Moon, L. Wang, R. Di Cenzo, M. E. Morris. *Biopharm. Drug Dispos.* 2008. Vol. 29. P.205–217.

226. Quercetin, Inflammation and Immunity. /Yao Li, Jiaying Yao, Jiaxin Yang, Maria Tabassum Chaudhry Chunyan Han et al. *Nutrients.* 2016. Vol. 8 (3). P. 167.

227. Raj U., Aier I., Varadwaj P. K. Taxifolin: A wonder molecule in making multiple drug targets. *Ann Pharmacol Pharm.* 2017. Vol. 2 (16). P. 1083–1084.

228. Research on characteristics, antioxidant and antitumor activities of dihydroquercetin and its complexes / Y. Zhang, J. Yu, X. D. Dong, H. Y. Ji. *Molecules.* 2018. Vol. 23. P. 1–20.

229. Research progress of dihydroquercetin / W. Liu, X. Liu, L. Meng et al. *Journal of Jilin Agricultural University.* 2018. Vol. 40 (4). P. 444–448.

230. Rodríguez-Monforte M., Flores-Mateo G, Sánchez E. Br. Dietary patterns and CVD: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Nutr.* 2015. Vol. 114 (9). P.1341–1359.

231. Rothwell J. A., Knaze V., Zamora-Ros R. Polyphenols: dietary assessment and role in the prevention of cancers. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017. Vol. 20 (6). P. 512–521.
232. Samman S., Wall P. M. L., Cook N. C. Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives Flavonoids in Health and Disease / Eds. L. Packer. New York, 1998. P. 469–481.
233. Slimestad R., Fossen T., Vagen I. M. Onions: a source of unique dietary flavonoids. *J. Agric. Food Chem*. 2007. Vol. 55. P. 10067–10080.
234. Some peculiarities of taxifolin electrooxidation in the aqueous media: the dimers formation as a key to the mechanism understanding / D. A. Chernikov, A. V. Kashevskii, B. N. Bazhenov et al. *Electrochimica Acta*. 2018. Vol. 271. P. 560–566.
235. Sonochemical micronization of taxifolin aimed at improving its bioavailability in drinks for athletes / I. Yu. Potoroko, I. V. Kalinina, N. V. Naumenko et al. *Человек. Спорт. Медицина*. 2018. Vol. 18 (3). P. 90–100.
236. Stereospecific high-performance liquid chromatography of taxifolin, applications in pharmacokinetics, and determination in tu fu ling (*Rhizoma Smilacis glabrae*) and apple (*Malus × domestica*) / K. R. Vega-Villa, C. M. Remsberg, Y. Ohgami et al. *Biomed. Chromatogr*. 2009. Vol. 23. P. 638–646.
237. Stereospecific pharmacokinetics of racemic homoeriodictyol, isosakuranetin, and taxifolin in rats and their disposition in fruit / K. R. Vega-Villa, C. M. Remsberg, J. K. Takemoto et al. *Chirality*. 2011. Vol. 23. P. 339–348.
238. Structure–property studies on the antioxidant activity of flavonoids present in diet / S. Teixeira, C. Siquet, C. Alves et al. *Free Radic. Biol. Med*. 2005. Vol. 39. P. 1099–1108.
239. Synergistic effect of resveratrol and quercetin released from drug-eluting polymer coatings for endovascular devices / J. J. Kleinedler, J. D. Foley, J. S. Alexander, S. C. Roerig et al. *Hebert*. 2011. Vol. 2 (99). P. 266–275.
240. Systematic Review on Polyphenol Intake and Health Outcomes: Is there Sufficient Evidence to Define a Health-Promoting Polyphenol-Rich Dietary

Pattern / C. Del Bo', S. Bernardi, M. Marino et al. *Nutrients*. 2019. Vol. 16. P. E1355.

241. Tangney C., Rasmussen H. E. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2013. Vol. 15 (5). P. 324.

242. Tapsell L. C., Neale E. P., Probst Y. Dietary Patterns and Cardiovascular Disease: Insights and Challenges for Considering Food Groups and Nutrient Sources. *Curr Atheroscler Rep.* 2019. Vol. 3 (21). P. 9.

243. Taxifolin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through its antioxidative effect and modulation of NF-kappa B activation / Y.-H. Wang, W. Y. Wang, C. C. Chang et al. *J. Biomed. Sci.* 2006. Vol. 13. P. 127–141.

244. Terekhov R., Selivanova I. Fractal aggregation of dihydroquercetin after lyophilization. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2018. Vol. 13 (4). P. 313–320.

245. The Common Technical Document for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Quality. Quality Overall Summary of Module 2. Module 3. Brüssels: ICH, 2002. 23 p.

246. The *in vitro* inhibitory effect of flavonoid astilbin on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase on Vero cells / T. H. Chen, J. C. Liu, J. J. Chang et al. *Zhonghua Yi. Xue. Za Zhi. (Taipei)*. 2001. Vol. 64. P. 382–387.

247. The inhibitory effect of astilbin on the arteriosclerosis of murine thoracic aorta transplant / J. Zhao, P. Li, Y. Zhang et al. *J. Huazhong. Univ Sci. Technolog. Med. Sci.* 2009. Vol. 29. P. 212–214.

248. The place of THAM in the management of acidemia in clinical practice / M. H. Holmdahl, L. Wiklund, T. Wetterberg et al. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2000. Vol. 44. P. 524–527.

249. The thermal and enzymatic taxifolin-alphitinin rearrangement / P. W. Elsinghorst, T. Cavlar, A. Muller et al. *J. Nat. Prod.* 2011. Vol. 74. P. 2243–2249.

250. Therapeutic aspects of taxifolin - An update / K. Saftar Asmi, T. Lakshmi, Sri Renukadevi Balusamy, R. Parameswari. *Journal of Advanced*

Pharmacy Education & Research. 2017. Vol. 7 (3). P. 187–189.

251. Tina McKay, Karamichos D. Quercetin and the ocular surface: What we know and where we are going. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017. Vol. 242 (6). P.565–572.

252. Tutel'ian V. A., Lashneva N. V. Biologically active substances of plant origin. Flavonols and flavones: prevalence, dietary sources and consumption. *Vopr Pitan*. 2013. Vol. 82 (1). P. 4–22.

253. Vascular function and atherosclerosis progression after 1 y of flavonoid intake in statin-treated postmenopausal women with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial / P. J. Curtis, J. Potter, P. A. Kroon et al. *Am. J. Clin. Nutr*. 2013. Vol. 97. P. 936–942.

254. VCP Coordinators. Epidemiology of chronic venous disorders in geographically diverse populations: results from the Vein Consult Program / E. Rabe, J. J. Guex, A. Puskas et al. *Int Angiol*. 2012. Vol. 31. P. 105–115.

255. Venoruton vs Daflon: evaluation of effects on quality of life in chronic venous insufficiency / M. R. Cesarone, G. Belcaro, L. Pellegrini et al. *Angiology*. 2006. Vol. 57 (2). P. 131–138.

256. Wang J., Zhao Y., Xu Q. Astilbin prevents concanavalin A-induced liver injury by reducing TNF- α production and T lymphocytes adhesion. *J. Pharm. Pharmacol*. 2004. Vol. 56. P. 495–502.

257. Weidmann A. E. Dihydroquercetin: More than just an impurity? *Eur. J. Pharmacol*. 2012. Vol. 684. P. 19–26.

258. Woodman S., Kim K. Membrane Lipids: Implication for Diseases and Membrane Trafficking. *SM J. Biol*. 2017. Vol. 3 P.1016.

259. World Health Organization. Cardiovascular Diseases (CVDs). Fact Sheet N 317. URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs_317/en/ (date of access 15 November, 2015)

260. Yan R., Xu Q. Astilbin selectively facilitates the apoptosis of interleukin-2-dependent phytohemagglutinin-activated Jurkat cells. *Pharmacol. Res*. 2001. Vol. 44. P. 135–139.

261. Zenebe W., Pecha-Nova O. Effects of red wine polyphenolic compounds on the cardiovascular system. *Bratisl. Lek. Listy*. 2002. Vol. 103 (4–5). P. 159–165.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г., Доля В. Г. Контроль механічних включень у розчині дигідрокверцетину для ін'єкцій. *Фармаком.* 2017. № 4. С. 42-46. (Особистий внесок: експериментальні роботи з напрацювання зразків препарату та проведення контролю розчину з наявності механічних включень; оформлення та підготовка статті до друку).
2. Bobokalo S., Almakaieva L., Panfilova H., Tsurikova O. Results of structural analysis of medical appointments of quereletin drugs and its derivatives in Ukraine. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2019. №6(22). С. 30-37.(Особистий внесок: експериментальні роботи з розрахунків; оформлення та підготовка статті до друку).
3. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Розробка технології одержання ін'єкційного розчину високоочищеного дигідрокверцетину. *The scientific heritage, Budapest, Hungary.* 2020. VOL 1. No 52 (52). С.15-18. (Особистий внесок: експериментальні роботи з розробки складу та технології одержання розчину, напрацювання зразків препарату, підготовка статті до друку).
4. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г. Перспективи створення дієтичних добавок антиоксидантної і капіляропротекторної дії на основі високочистого біофлавоноїда дигідрокверцетина. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: зб. наук. пр.* 2016 р. Харків. С. 90-93. (Особистий внесок: експериментальні роботи з розробки складу та технології оральних розчинів на неводних розчинниках; оформлення та підготовка статті до друку).
5. Остапечь Марина, Бобокало Сергій. «ДГК-КАРДІО» - комплексний підхід для кращої роботи серця і судин. *Современная фармация.* Септябрь. 2019. С.73-77.

6. Остапечь Марина, Бобокало Сергій. Продукт номер один для серця і судин – дигідрокверцетин. *Современная фармация*. Август. 2019. С.34-37.

7. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 117389 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. Бегунова Н.В. № а 2016 07155; заявл. 01.07.2016; опубл. 25.07.2018. - Бюл. № 14. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

8. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 118075 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. № а 2018 03421; заявл. 01.07.2016; опубл. 12.11.2018. Бюл. № 21. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

9. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину: пат. № 118076 України / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г., Староверов В.М. № а 201803422; заявл. 01.07.2016; опубл. 12.11.2018. - Бюл. № 21. (Особистий внесок: проведення патентного пошуку, участь у проведенні експериментальної частини, опис заявки).

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез).

2. International scientific conference «World science» «International Trends in Science and Technology» (Warsaw. Poland. 17 October 2017, форма участі – публікація тез).

3. XI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (Харків, 19 травня 2017 р., форма участі – публікація тез).

4. I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 5 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез).

5. Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування дня фармацевтичного працівника України «Сучасна Фармація: Історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез).

6. Міжнародній науково-практичній конференції «Науковий підхід до сфери практичної косметології: актуальні питання й тренди» (Харків, 11 березня 2020 р., форма участі – публікація тез).

7. 4th International scientific and practical conference «Innovative development of science and education» (Athens, Greece. 2020, форма участі – публікація тез).

Додаток Б

Довідка про впровадження результатів науково-дослідних робіт

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи ДЗ «Луганський державний медичний університет»
(м. Рубіжне)

 професор Сергій СМІРНОВ
«03» бересня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Стандартизація ін'єкційних лікарських засобів. Контроль механічних включень в ін'єкційних розчинах.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра косметології та ароматології, здобувач Бобокало С.В.

3. Джерела інформації:

- Бобокало С. В. Контроль механічних включень у розчині дигідрокверцетину для ін'єкцій / Бобокало С. В., Алмакаева Л.Г., Доля В. Г. // Фармаком. - № 4. - 2017. - С. 42-46.
- С. В. Бобокало, Алмакаева Л.Г. / Разработка способа получения раствора дигидрокверцетина. «International Trends in Science and Technology»: International scientific conference «World science», Warsaw, Poland, October 17, 2017 p. - Vol. 5. - RS Global S. z O.O., Warsaw, Poland, 2017. - С. 70-74.

4. Впроваджено: У навчальний процес кафедри технології ліків, організації та економіки фармації за темою «Технологія ліків. Виробництво ін'єкційних лікарських засобів», «Стандартизація лікарських засобів».

5. Термін впровадження: 2019-2020 н. р.

6. Ефективність впровадження: Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено у навчальний процес кафедри.

В.о. завідувача кафедри технології ліків, організації та економіки фармації ДЗ «Луганський державний медичний університет»



доцент Наталія КУЧЕРЕНКО

Продовж. дод. Б

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету,

д.м.н., професор. Візір В.А.

20 19 р.**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та стандартизація технології ін'єкційних розчинів на основі дигідрокверцетину «ДГК-Arg» та «ДГК-Meg».

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра косметології та ароматології, здобувач Бобокало С.В.

3. Джерела інформації:

- Бобокало С.В. Розробка технології одержання ін'єкційного розчину високоочищеного дигідрокверцетину / Бобокало С.В., Алмакаєва Л.Г. The scientific heritage, Budapest, Hungary. VOL 1, No 52 (52) (2020).
- Бобокало, С. В. Дигідрокверцетин для парентерального застосування / С. В. Бобокало, Л. Г. Алмакаєва // Управління якістю в фармації : матеріали XI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 19 трав. 2017 р. - Х., 2017. - С. 29.

4. Впроваджено: У науково-педагогічний процес кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету за темою: «Виробництво ін'єкційних лікарських засобів».

5. Термін впровадження: 2019-2020 н.р.

6. Ефективність впровадження: Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено у навчальний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри технології ліків,
доктор фармацевтичних наук, професор

«05» вересня 2019

В.В.Гладишев

Додаток В

Довідка про апробацію промислового виробництва лікарського засобу на основі дигідрокверцетину «ДГК-Meg», концентрат для приготування розчину для інфузій в ампулах по 5 мл

**ЗАТВЕРДЖУЮ:****Голова правління
ПрАТ «Лекхім-Харків»****Колесников Д. Д.****14 лютого 2020 р.****АКТ**

**апробації промислового виробництва лікарського засобу
на основі дигідрокверцетину «ДГК-Meg»,
концентрат для приготування розчину для інфузій
в ампулах по 5 мл**

В промислових умовах цеху ін'єкційних препаратів ПрАТ «Лекхім-Харків», м. Харків в період з 13 по 14 лютого 2020 року апробована технологія виробництва розчину на основі дигідрокверцетину «ДГК-Meg», в ампулах по 5 мл. Напрацьовані зразки лікарського засобу «ДГК-Meg», концентрат для приготування розчину для інфузій відповідають вимогам проекту МКЯ. Препарат включено до перспективного плану промислового виробництва на 2020-2021 роки.

Від ПрАТ «Лекхім-Харків»:

Від НФаУ :

Директор з виробництва

Здобувач

Лозова К.В.

С.В. Бобокало

Директор з якості

Науковий керівник, д.фарм.н., проф.

Літвінова О.М.

Л.Г.Алмакаєва

Продовж. дод. В

Довідка про апробацію промислового виробництва лікарського засобу на основі дигідрокверцетину «ДГК-Arg», концентрат для приготування розчину для інфузій в ампулах по 5 мл

ЗАТВЕРДЖУЮ:
 Головний технолог
 АТ «БІОЛІК»
 Жлудько О.В.
 «22» травня 2020 р.

АКТ

**апробації промислового виробництва
 лікарського засобу на основі дигідрокверцетину
 «ДГК-Arg», концентрат для приготування розчину для інфузій
 в ампулах по 5 мл**

В промислових умовах цеху з виробництва стерильних лікарських засобів АТ «БІОЛІК», м. Харків в період з 21 по 22 травня 2020 року апробована технологія виробництва розчину на основі дигідрокверцетину «ДГК-Arg», в ампулах по 5 мл. Напрацьовані зразки лікарського засобу «ДГК-Arg», концентрат для приготування розчину для інфузій відповідають вимогам проекту МКЯ. Препарат включено до перспективного плану промислового виробництва на 2020-2021 роки.

Від АТ «БІОЛІК»:

Начальник відділу фармацевтичної розробки

 Назарова О.С.

Начальник сектору технологічних досліджень відділу фармацевтичної розробки

 Сіденко Л.М.

Техніси Жлудько О.В., Назарова О.С.,
 Сіденко Л.М. за підписом

Стар. технолог Кирієв  - Яковлєв Р.В.

Від НФаУ:

Здобувач

 Бобокало С.В.

Науковий керівник

 Алмакаєва Л.Г.

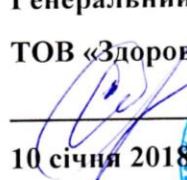
Продовж. дод. В

**Довідка про апробацію та впровадження промислового
виробництва дієтичної добавки на основі дигідрокверцетину
«ДГК-G», оральний розчин, краплі під язик**

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Генеральний директор

ТОВ «Здорова їжа»


С.О. Дусаєв
10 січня 2018 р.



АКТ

**апробації та впровадження в промислове виробництво
дієтичної добавки на основі дигідрокверцетину «ДГК-G»,
оральний розчин, краплі під язик
згідно ТУ У 10.8-36988678-001:2013 замовника**

На підприємстві ТОВ «Здорова їжа», м. Харків, в промислових умовах цеху в період з 10 по 11 січня 2018 року апробована технологія виробництва розчину на основі дигідрокверцетину «ДГК-G» в флаконах по 15 і 20 мл. Напрацьовані зразки дієтичної добавки «ДГК- G», оральний розчин, відповідають ТУ У 10.8-36988678-001:2013 та вимогам проекту МКЯ.

Дієтичну добавку «ДГК- G» впроваджено в промислове виробництво згідно Договору контрактного виробництва №БС-10/01/2018 з 12 квітня 2018 року.

Від ТОВ «Здорова їжа»:

Від НФаУ :

Директор з виробництва

Здобувач

С.В. Бобокало

Директор з якості

Науковий керівник

Л.Г. Алмакаєва

Продовж. дод. В

Довідка про апробацію та впровадження промислового виробництва дієтичної добавки на основі дигідрокверцетину «ДГК-Р», оральний розчин, краплі під язик



Товариство з обмеженою
відповідальністю
"НУТРИДЕМ"

08330 Київська обл., Бориспільський р-н., с. Дударків, вул. Садова, 3
Тел.: /044/ 467-29-30; Факс: /044/ 425-53-33
e-mail: info@vansiton.ua

Вих. № 37-140420
від 14.04.2020р.

АКТ

апробації та впровадження в промислове виробництво дієтичної добавки на основі дигідрокверцетину «ДГК-Р», оральний розчин, краплі під язик згідно ТУ У 10.8-36988678-001:2013 замовника

В промислових умовах цеху ТОВ «Нутрідем», 08330 Київська обл., Бориспільський р-н., с. Дударків, вул. Садова, 3, в період з 08 по 10 квітня 2020 року апробована технологія виробництва розчину на основі дигідрокверцетину «ДГК-Р» в флаконах по 15 мл.

Напрацьовані зразки дієтичної добавки «ДГК-Р», оральний розчин, краплі під язик, відповідають ТУ У 10.8-36988678-001:2013 та вимогам проекту МКА.

Дієтичну добавку «ДГК-Р» впроваджено в промислове виробництво згідно Договору контрактного виробництва №04-2019М з 14 квітня 2020 року.

Заступник Директора
з виробництва ТОВ «НУТРИДЕМ»



Міщенко В.І.

Від НФаУ:

Здобувач

Науковий керівник

Бобокало С.В.

Алмакаєва Л.Г.

Додаток Г

Обкладинка Патенту України на винахід № 117389

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



Продовж. дод. Г

Опис до Патенту України на винахід № 117389

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117389** (13) **C2**

(51) МПК (2018.01)

A61K 31/33 (2006.01)
C07C 229/26 (2006.01)
C07C 215/06 (2006.01)
C07D 311/32 (2006.01)
C07D 279/04 (2006.01)
A61K 31/197 (2006.01)
A61K 31/133 (2006.01)
A61P 9/00

МІНІСТЕРСТВО
 ЕКОНОМІЧНОГО
 РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
 УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2016 07155 (22) Дата подання заявки: 01.07.2016 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.07.2018 (41) Публікація відомостей про заявку: 10.01.2017, Бюл.№ 1 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2018, Бюл.№ 14 Винахідник(и): Бобокало Сергій Вікторович (UA), Алмакаєва Людмила Григорівна (UA), Старовсров Владімір Міхайлович (RU), Бегунова Наталія Власівна (UA) Власник(и): Бобокало Сергій Вікторович, вул. Труда, 11, м. Лебедин, Сумська обл., 42200 (UA), (72) Алмакаєва Людмила Григорівна, вул. Аерофлотська, 11, кв. 44, м. Харків, 61031 (UA), Старовсров Владімір Міхайлович, ул. Прилесная, 49, п. Майский, Белгородская обл., 308503, Россия (RU) (74) Представник: Лерантович Еліна Томашівна, реєстр. №285	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2122420 C1, 27.11.1998, реферат, стор.4, приклад 1, формула винаходу, п.1 WO 2001/034464 A1, 24.03.2011, формула винаходу, пп.1, 2, 4, 6 UA 96047 C2, 26.09.2011, формула винаходу UA 76591 C2, 10.01.2013, формула винаходу RU 2545905 C1, 16.12.2013, реферат, стор.3, другий абзац, стор.4, приклади, формула винаходу, п.1 Guo H, "Taxifolin protects against cardiac hypertrophy and fibrosis during biomechanical stress of pressure overload", Toxicology and Applied Pharmacology., 287(2015), 168-177, стор.172, Discussion JP 2008092869 A, 24.04.2008, реферат, абз. [0046], стор.9, формула винаходу RU 2357746 C2, 15.05.2007, реферат, формула винаходу Mark J. Neveu, "Vitamin C and Dihydroquercetin", Life Extension Magazine, p.1, 2006
---	--

UA 117389 C2

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ У ФОРМІ КОНЦЕНТРАТУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ІНФУЗІЙНОГО РОЗЧИНУ

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини та хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до створення, виробництва та використання лікарських препаратів для лікування серцево-судинних захворювань у вигляді ін'єкцій. Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину містить діючу речовину на основі біофлавоноїду, допоміжні речовини та воду для ін'єкцій, як біофлавоноїд містить дигідрокверцетин, його сполуки і похідні та додатково містить аргінін, а як допоміжні речовини містить полівінілпірролідон з м. м. 8000 або поліетиленоксид 400, або пропіленгліколь 1,2, або їх комбінації.

Продовж. дод. Г

Обкладинка Патенту України на винахід № 118075

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



Продовж. дод. Г

Опис до Патенту України на винахід № 118075

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118075** (13) **C2**

(51) МПК (2018.01)

A61K 31/33 (2006.01)**A61P 9/00****C07C 215/06** (2006.01)**C07D 311/32** (2006.01)**A61K 31/133** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2018 03421	(72) Винахідник(и): Бобокало Сергій Вікторович (UA), Алмакаєва Людмила Григорівна (UA), Старовєров Владімір Михайлович (RU)
(22) Дата подання заявки: 01.07.2016	(73) Власник(и): БОБОКАЛО Сергій Вікторович, вул. Праці, буд. 11, м. Лебедин, Сумська обл., 42200 (UA), АЛМАКАЄВА ЛЮДМИЛА ГРИГОРІВНА, вул. Аерофлотська, б. 11, кв. 44, м. Харків, 61031 (UA), СТАРОВЄРОВ Владімір Михайлович, ул. Прилесная, 49, п. Майский, Белгородская обл., 308503, Российская Федерация (RU)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 12.11.2018	(74) Представник: Лерантович Еліна Томашівна, реєстр. №285
(41) Публікація відомостей про заяву: 25.06.2018, Бюл.№ 12	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Mark J. Neveu, "Vitamin C and Dihydroquercetin", Life Extension Magazine, p.1, 2006 CN 1663569 A, 07.09.2005, реферат MX 2015011988 A, 09.09.2015, реферат, формула винаходу
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.11.2018, Бюл.№ 21	
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заяву, позначену кодом (21): а2016 07155, 01.07.2016	

UA 118075 C2

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ У ФОРМІ КОНЦЕНТРАТУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ІНФУЗІЙНОГО РОЗЧИНУ

(57) Реферат:

Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину містить діючу речовину на основі біофлавоноїду, допоміжні речовини та воду для ін'єкцій, як біофлавоноїд містить дигідрокверцетин, додатково містить меглумін, а як допоміжні речовини містить полівінілпіролідон з м. м. 8000 або поліетиленоксид 400, або пропіленгліколь 1,2, або їх комбінації.

Продовж. дод. Г

Обкладинка Патенту України на винахід № 118076

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



Продовж. дод. Г

Опис до Патенту України на винахід № 118076

«Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину»



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118076** (13) **C2**

(51) МПК (2018.01)

A61K 31/33 (2006.01)**A61P 9/00****A61K 31/133** (2006.01)**C07C 215/06** (2006.01)**C07D 311/32** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2018 03422**
 (22) Дата подання заявки: **01.07.2016**
 (24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **12.11.2018**
 (41) Публікація відомостей про заявку: **25.06.2018, Бюл.№ 12**
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **12.11.2018, Бюл.№ 21**
 (62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21): **а2016 07155, 01.07.2016**

(72) Винахідник(и):
Бобокало Сергій Вікторович (UA),
Алмакаєва Людмила Григорівна (UA),
Старовєров Владімір Міхайлович (RU)
 (73) Власник(и):
БОБОКАЛО Сергій Вікторович,
вул. Праці, буд. 11, м. Лебедин, Сумська обл., 42200 (UA),
АЛМАКАЄВА ЛЮДМИЛА ГРИГОРІВНА,
вул. Аерофлотська, б. 11, кв. 44, м. Харків, 61031 (UA),
СТАРОВЄРОВ Владімір Міхайлович,
ул. Прилесная, 49, п. Майский, Белгородская обл., 308503, Российская Федерация (RU)
 (74) Представник:
Лерантович Еліна Томашівна, реєстр. №285
 (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
Mark J. Neveu, "Vitamin C and Dihydroquercetin", Life Extension Magazine, p.1, 2006
Planta, M., Gudipati, C., Weil, M. H., Kraus, L. J. and Rackow, E. C. (1988), Effects of Tromethamine and Sodium Bicarbonate Buffers During Cardiac Resuscitation. The Journal of Clinical Pharmacology, 28: 594-599, реферат
RU 2481845 C2, 07.07.2011, формула винаходу

UA 118076 C2

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ У ФОРМІ КОНЦЕНТРАТУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ІНФУЗІЙНОГО РОЗЧИНУ

(57) Реферат:

Лікарський засіб у формі концентрату для приготування інфузійного розчину містить діючу речовину на основі біофлавоноїду, допоміжні речовини та воду для ін'єкцій, як біофлавоноїд містить дигідрокверцетин, додатково містить трометамол, а як допоміжні речовини містить полівінілпіролідон з м. м. 8000 або поліетиленоксид 400, або пропіленгліколь 1,2, або їх комбінації.

Додаток Д

Технічні умови «Добавки дієтичні» серії «Таксіфолія»

ТУ У 10.8-36988678-001:2013 від 22.08.2013 р.

ДКПП 10.89.19-40.90

УКНД 67.220.20

ПОГОДЖЕНО

Заступник головного державного
санітарного лікаря України
Висновок державної санітарно-
епідеміологічної експертизи

№ 05.03.02-06/74641
від "16" 08 2013р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор
ТОВ «ЗДОРОВА ЇЖА»
_____ С. О. Дунаєв

"16" 08 2013р

ДОБАВКИ ДІЄТИЧНІ

серії «Таксіфолія»

ТЕХНІЧНІ УМОВИ

ТУ У 10.8-36988678-001:2013

Дата надання чинності: "22" 08 2013рЧинні до "26" 08 2018р

РОЗРОБЛЕНО



Генеральний директор
ТОВ «ЗДОРОВА ЇЖА»

С. О. Дунаєв

"02" 07 2013р

Продовж. дод. Д

Зміна № 1 ТУ У 10.8-36988678-001:2013 Технічні умови «Добавки дієтичні» серії «Таксіфолія» від 24.10.2018 р.

ДКПІ 10-89.19-40.90

УКНД 67.220.20

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Фізична особа-підприємець:

«01» 10 2018 р. С.В. Бобокало

**ЗМІНА № 1****ТУ У 10.8-36988678-001:2013****Добавки дієтичні серії «Таксіфолія»**Дата надання чинності з «24» 10 2018 р.**Розроблено:**

Фізична особа-підприємець:

«01» 10 2018 р. С.В. Бобокало

Внесено до книги обліку за № 02568182/038355/01

Додаток Е

Висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи



**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СЛУЖБА**

ЗАТВЕРДЖУЮ

ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА
СЛУЖБА УКРАЇНИ
(назва установи)
вул.Грушевського, 7, м.Київ, 01601
(місцезнаходження)
253-94-84, 559-29-88

Заступник головного державного
санітарного лікаря України


С.В. Протас

Висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи

від 16.04 2015р. № 05.03.02-04/ 31747

Додатки дістичні серії «Таксіфолія»: «Таксіфолія» «ДГК «Г», «Таксіфолія» «ДГК «Р», «Таксіфолія» «ДГК - кардіо», «Таксіфолія» «ДГК - таблетки для розсмоктування» згідно ТУ У 10.8-36988678-001:2013 «Додатки дістичні серії «Таксіфолія» (тексти етикетування додаються до висновку).

(об'єкт експертизи)

код за ДКПП: 10.89.19-40.90
(код за ДКПП, код за УКТЗЕД артикула)

Додатки дістичні до раціону харчування населення. Реалізація через спеціалізовані відділи магазинів та аптечну мережу. Не є лікарським засобом. Висновок не може бути використаний для реклами споживчих якостей об'єкта санітарно-епідеміологічної експертизи.

(сфера застосування та реалізації об'єкта експертизи)

ФО – П Бобокало Сергій Вікторович, 42200, Україна, Сумська обл., м. Лебедин, вул. Труда, буд. 11, тел.: +38(050)4000930, код 3263413317, e-mail: bobo7sv@gmail.com.
Адреса виробництва : Україна, 61103, м.Харків, просп Леніна, 47, ТОВ «ЗДОРОВА ЇЖА», -, -, тел.: -, код ЄДРПОУ: -

(країна, виробник, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

ФО – П Бобокало Сергій Вікторович, Україна, 42200, Сумська обл., м. Лебедин, вул. Труда, буд. 11, тел.: +38(050)4000930, e-mail: bobo7sv@gmail.com, код ЄДРПОУ: 3263413317

(заявник експертизи, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

вітчизнина продукція.

(дані про контракт на постачання об'єкта експертизи в Україні)

Об'єкт експертизи відповідає встановленим медичним критеріям безпеки / показникам:
ГН 4.4.8.073-2001 "Тимчасові гігієнічні нормативи вмісту контамінантів хімічної і біологічної природи у біологічно активних добавках", ГН 6.6.1.1-130-2006. ТУ У 10.8-36988678-001:2013 «Додатки дістичні серії «Таксіфолія»
вміст токсичних елементів (мг/кг, не більше): свинець -6,0, кадмій-1,0, миш'як-0,5, ртуть-0,1, рідкі: свинець -0,5, кадмій -0,03, миш'як -0,05, ртуть-0,01; пестициди: ГХЦГ-0,1, ДДТ та метаболіти -0,1, алдрин - не дозв, гептахлор - не дозв; мікробіологічні показники: МАФАМ, КУО/г, не більше ніж 1х10000, БГКП(колі форми) в 0,1 г - не дозв, E.coli в 1.0г - не дозв, S. aureus, в 1,0 г - не дозв, патогенні мікроорганізми, в т.ч. роду Salmonella, в 10г - не дозв, плісневі гриби, КУО/г, не більше -100, дріжджі, КУО/г, не більше -100, B.cereus, КУО/г, не більше - 200, Радіонукліди, Бк/кг, не більше : 137Cs -200,90 Sr-50

(критерії безпеки / показники)

коротко

Продовж. дод. Е

Необхідними умовами використання /застосування, зберігання, транспортування, утилізації, знищення є:

зберігати в сухому, захищеному від світла та недоступному для дітей місці при температурі від 0 градС до 25 градС та відносній вологості не більше 75 %.

(особливості умов використання, застосування, зберігання, транспортування, утилізації, знищення)

За результатами державної санітарно-епідеміологічної експертизи Додатки дієтичні серії «Таксіфолія»: «Таксіфолія» «ДГК «Г», «Таксіфолія» «ДГК «Р», «Таксіфолія» «ДГК - кардіо», «Таксіфолія» «ДГК - таблетки для розсмоктування» згідно ТУ У 10.8-36988678-001:2013 «Додатки дієтичні серії «Таксіфолія» (тексти етикетування додаються до висновку), за наданим заявником зразком відповідає вимогам діючого санітарного законодавства України і за умови дотримання вимог цього висновку може бути використаний в заявленій сфері застосування.

Термін придатності: 2 роки від дати виробництва

за додатком

(інформація щодо етикетки, інструкція, правила тощо)

Висновок дійсний до: на термін дії ТУ У 10.8-36988678-001:2013. «Додатки дієтичні серії «Таксіфолія»

Відповідальність за дотримання вимог цього висновку несе заявник.

При зміні рецептури, технології виготовлення, які можуть змінити властивості об'єкта експертизи або спричинити негативний вплив на здоров'я людей, сфери застосування, умов застосування об'єкта експертизи даний висновок втрачає силу.

не потребують

(показники безпеки, які підлягають контролю на кордоні)

не потребують

(показники безпеки, які підлягають контролю при митному оформленні)

Поточний державний санепідгляд здійснюється згідно з вимогами цього висновку: Поточний державний санепідгляд здійснюється згідно чинного законодавства

(показники безпеки, які здійснюються при поточному державному санепідгляді)

Державна установа "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М.Марзєєва НАМН України"

02660, м.Київ, вул.Попудренка, 50, тел.: (044) 513-60-20

(найменування, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

Протокол експертизи

№ 1634 від 10.07.2015р.

(№ протоколу, дата його затвердження)

Заступник голови експертної комісії



Горваль А.К.

Додаток Ж

Звіт про проведення науково-дослідної роботи щодо «Скринінгового дослідження кардіопротекторної дії препарату Дигідрокверцетин, концентрат для інфузій, порівняно із препаратом Корвітин®, ліофілізат для розчину для ін'єкцій» (ГНЦЛС)

ГП «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ПРОДУКЦИИ» (ГП «ГНЦЛС»)

«УТВЕРЖДАЮ»

И.о. директора ГП «ГНЦЛС»
проф. Казаринов Н.А.

«_____» _____ 2019 г.

**О Т Ч Е Т**

о научно-исследовательской работе
по Договору № БС-07.03.19
от 7.03.2019 г.

«Скрининговое исследование кардиопротекторного действия препарата Дигидрокверцетин, концентрат для инфузий, в сравнении с препаратом Корвитин®, лиофилизат для раствора для инъекций»

Харьков – 2019

Додаток 3

Затвердження до промислово виробництва дієтичних добавок (БАДів) на основі дигідрокверцетину «DGK-G» «DGK-P», пероральних розчинів для застосування у вигляді під'язикових крапель відповідно до зазначених процедур

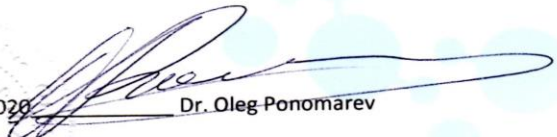


I, Dr. Oleg Ponomarev, President of Conductive Organics Inc at 100 Jersey Ave, Suite 302, Box D2, New Brunswick, NJ 08901, USA, hereby certify:

The approval of the industrial production of dietary supplements (BAA) based on Dihydroquercetin "DGK-G" and "DGK-P", an oral solution to be utilized as drops under the tongue according to the noted procedure.

Under industrial conditions, taking place at the laboratory of Long Life Health Products at 100 Jersey Ave New Brunswick NJ 08901, from the period of July 27, 2020 to July 30, 2020; the technology for the production of solutions based on Dihydroquercetin "DGK-G" and "DGK-P" in vials of 15 ml were tested. The samples of dietary supplements "DGK-G" and "DGK-P", oral solutions, correspond to the provided TU U 10.8-36988678-001:2013 (Ukraine) and the requirements of the QCM (quality control method). BAA "DGK-G" and "DGK-P" are included in the long-term plans for industrial production through 2022.

July 30, 2020


Dr. Oleg Ponomarev

Продовж. дод. 3

Переклад виконано з англійської мови на українську мову

/Логотип/: «КОНДАКТИВ ОРГЕНІКС» (CONDUCTIVE ORGANICS)

Я, доктор Олег Пономарьов, президент «Кондактив Оргенікс Інк» (Conductive Organics Inc), адреса: США, штат Нью-Джерсі, 08901, м. Нью-Брансвік, Джерсі Авеню, 100, офіс 302, скринька D2, дійсним засвідчую:

Затвердження до промислового виробництва дієтичних добавок (БАДів) на основі дигідрокверцетину «DGK-G» та «DGK-P», пероральних розчинів для застосування у вигляді під'язикових крапель відповідно до зазначених процедур.

Технологія виробництва розчинів на основі дигідрокверцетину «DGK-G» та «DGK-P» у флаконах по 15 мл була випробувана у промислових умовах, а саме в лабораторії «Лонг Лайф Хелс Продактс» (Long Life Health Products) за адресою: США, штат Нью-Джерсі, 08901, м. Нью-Брансвік, Джерсі Авеню, 100 в період з 27 липня 2020 року по 30 липня 2020 року. Зразки пероральних розчинів «DGK-G» та «DGK-P» відповідають наданому стандарту ТУ У 10.8-36988678-001:2013 (Україна) та вимогам МКЯ (методу контролю якості). БАДи «DGK-G» та «DGK-P» включено до довготривалих планів промислового виробництва до 2022 року.

30 липня 2020 р. /Підпис/ доктор Олег Пономарьов

/Печатка/: «Кондактив Оргенікс Інк» (Conductive Organics Inc) * КОРПОРАЦІЯ * НЬЮ-ДЖЕРСІ * 2013 * ПЕЧАТКА

«Кондактив Оргенікс Інк» (Conductive Organics Inc)
Штат Нью-Джерсі, 08901, м. Нью-Брансвік,
Джерсі Авеню, 100, офіс 302, скринька D2

732.214.8600
www.conductiyeorganics.com

Цей переклад з англійської мови на українську мову виконано мною, перекладачем
Комарем Артемом Олександровичем А. Комарь.

Продовж. дод. 3

Нотаріально засвідчений підпис перекладача Комаря Артема Олександровича

Місто Харків, Україна

Одинадцятого березня дві тисячі двадцять першого року.

Я, **Кравченко С.В.**, приватний нотаріус Харківського міського нотаріального округу засвідчую справжність підпису перекладача **Комаря Артема Олександровича**, який зроблено у моїй присутності.

Особу перекладача встановлено, його дієздатність та кваліфікацію перевірено.

Зареєстровано в реєстрі за № 2306

Стягнуто плату за домовленістю згідно ст. 31 Закону України «Про нотаріат»

Приватний нотаріус
Харківського міського
нотаріального округу



Кравченко С.В.



Всього прошито, пронумеровано
і скріплено печаткою 2 (с.В.К.) аркуш

Приватний нотаріус
Харківського міського
нотаріального округу

Кравченко С.В.

Кравченко С.В.