

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 вискоефективної 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 піки домішок. Проведено ідентифікацію домішок: кверцетин, еріктол та дигідрокемпферол. Сторонні домішки регламентують наступним чином: вміст одиничної 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 С05-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 заправки 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 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. 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-5С1та 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 та № 117075, №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-Г».

Визначено фізико-хімічні, мікробіологічні характеристики розчинів для орального застосування «ДГК-Р» та «ДГК-Г» 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

Статті у фахових виданнях

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. Results of structural analysis of medical appointments of queretetin drugs and its derivatives in Ukraine / S. Bobokalo, L. Almakaieva, H. Panfilova, O. Tsurikova. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2019. №6(22). С. 30-37.(Особистий внесок: експериментальні рорботи 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).

Статті в інших виданнях

4. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г.. Перспективи створення дістичних 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 рорботи з розробки складу та технології оральних розчинів на неводних розчинниках; оформлення та підготовка статті до друку).
5. Остапець Марина, Бобокало Сергій. «ДГК-КАРДІО» - комплексний підхід для кращої роботи серця і судин. *Современная фармация*. Сентябрь. 2019. С.73-77.
6. Остапець Марина, Бобокало Сергій. Продукт номер один для серця і судин – дигідрокверцетин. *Современная фармация*. Август. 2019. С.34-37.

Патенти

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).

Тези доповідей

10. Бобокало С. В., Алмакаєва Л. Г.. Дигідрокверцетин - препарати нового покоління. *Фармація XXI 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., Snehurova D. V., Almakaieva L. G . Methods for creating stable aqueous solutions from differently soluble substantives. *Innovative development of science and education. Abstracts of the 4th International scientific and practical conference. ISGT Publishing House. Athens, Greece. 2020. P. 84-86.*