

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної біології та біоінформатики
проф. Нипорко Олексій Юрійович
Протокол №____ засідання кафедри
від “ ____ ” _____ 20__ р.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ
DRUG DELIVERY SYSTEMS КВЕРЦЕТИНУ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
студента спеціальності 091 Біологія
ОП «Біологія (високі технології)»
Полуніна Антона Олександровича

Кафедра молекулярної біотехнології та біоінформатики
Науковий керівник від кафедри
доцент кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики
д.б.н. **Цимбалюк Ольга Володимирівна**

Робота виконана у відділі медичної хімії,
ДУ «Інституту фармакології та токсикології НАМН України»
під керівництвом **З. С. Суворової**

Оцінка захисту роботи

Київ — 2024 р.

АНОТАЦІЯ

Полунін А.О. "Експериментальне обґрунтування протизапальної дії Drug Delivery Systems кверцетину". – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія (високі технології).

У огляді літератури було наведено теоретичне обґрунтування вибору теми та її актуальність, задля доведення доцільності подальших експериментальних досліджень.

У експериментальній частині роботи були виконані фізико-хімічні методи дослідження цілісності структур препаратів та експерименти *in vivo* присвячені перевірці та підтвердженню протизапальної активності відомих систем транспорту кверцетину, а саме препаратів Ліпофлавіон та Корвітин.

Встановлено, що за внутрішньовенного введення вказані препарати проявляють протизапальну активність, яка була оцінена з використанням класичних фармакологічних методів та методів статистичної обробки даних.

Отримані результати можуть бути використані у подальших фармакологічних дослідженнях та медичній практиці задля лікування захворювань та запалень, що ними супроводжуються.

Ключові слова: кверцетин, протизапальна активність, фізико-хімічні методи, *in vivo*.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. Кверцетин: класифікаційне положення та біологічна активність.....	7
РОЗДІЛ 2. Drug delivery systems кверцетину.....	15
РОЗДІЛ 3. Матеріали та методи дослідження.....	18
3.1. Матеріали дослідження.....	18
3.2. Методи дослідження.....	19
РОЗДІЛ 4. Результати та їх обговорення.....	21
ВИСНОВКИ.....	25
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	27

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

IL-1b — інтерлейкін-1b.

IL-8 — інтерлейкін-8.

5-HT1 — серотонінові рецептори 1-го типу.

5-HT2 — серотонінові рецептори 2-го типу.

5-HT3 — серотонінові рецептори 3-го типу.

5-HT4 — серотонінові рецептори 4-го типу.

5-ЛОГ — 5-ліпооксигеназа.

НПЗП — нестероїдні протизапальні препарати.

ЦОГ-1 — циклооксигеназа-1.

ЦОГ-2 — циклооксигеназа-2.

TNF-alpha — Tumor necrosis factor- α (фактор некрозу пухлин-альфа).

IL-6 — інтерлейкін-6.

ALB — альбумін.

АКТ1 — серин-треонінова протеїнкіназа-1.

HIF-1 — сигнальний шлях фактору, індукованого гіпоксією 1-альфа.

TNF — сигнальний шлях фактору некрозу пухлин-альфа.

NF- κ B - сигнальний шлях транскрипційного фактору NF- κ B.

ВСТУП

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра присвячена теоретичному та експериментальному обґрунтуванню протизапальних властивостей відомих систем транспорту кверцетину, задля подальшого застосування у лікуванні захворювань, що супроводжуються запальними процесами.

Актуальність. З огляду на теперішню ситуацію в Україні та світі, а саме якщо враховувати наслідки пандемії Covid-19 та повномасштабне вторгнення, особливої уваги вимагає протидія запальним процесам у організмі людини, що можуть виникати унаслідок механічного пошкодження тканин, або їх пошкодження через дію патогенних мікроорганізмів.

У різноманітних наукових дослідженнях, особливо у медичній, фармацевтичній та фармакологічній сферах, передусім завдяки наявності великої кількості корисних профілактичних та лікувальних властивостей, важливу роль відіграють рослини в цілому, їхні органи та компоненти, екстракти з цих частин, а також різноманітні речовини, що ними продукуюються, та препарати на їх основі. Створення останніх стало можливим завдяки численним дослідженням присвячених встановленню, перевірці чи підтвердженню біологічної дії багатьох речовин рослинного походження [1].

Мета та завдання роботи. Мета роботи – надати експериментально-теоретичне обґрунтування протизапальної активності систем транспорту кверцетину при запаленні для клінічної трансляції нових показів до застосування інноваційних препаратів на основі кверцетину.

Основні завдання дослідження:

1) теоретично обґрунтувати актуальність вибору теми, а також доцільність дослідження кверцетину та його біологічної дії, переваг та недоліків використання у клінічній практиці;

2) провести інформаційний аналіз фармакотерапевтичних властивостей, фізико-хімічних особливостей та складу відомих у світі drug delivery systems кверцетину;

3) оцінити протизапальну активність систем транспорту кверцетину за внутрішньовенного/інгаляційного введення та встановлення доцільності проведення подальших етапів дослідження щодо розширення показів до застосування препаратів з кверцетином.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше теоретично обґрунтовано дослідження біологічної дії природного поліфенолу – кверцетину. Експериментально підтверджено протизапальну активність кверцетину та його систем транспорту при запальних патологіях. Розширення уявлення про покази до застосування ліцензійних препаратів Ліпофлавон та Корвітин.

Апробація результатів дисертації. Матеріали кваліфікаційної роботи доповідались на Всеукраїнській науково-практичній онлайн-конференції «Молодіжна військова наука у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка» (м. Київ, 2024) та на науковій конференції «Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження», приурочена до 20-річчя Асоціації і 22-річчя фахового видання України (категорія «Б», SCOPUS-2024) «Фітотерапія. Часопис» (м. Київ, 2024).

Публікації. Матеріали кваліфікаційної роботи опубліковано у 2 роботи, з них: 2 тези-доповіді у матеріалах конференцій, у тому числі з міжнародною участю.

РОЗДІЛ 1. Кверцетин: класифікаційне положення та біологічна активність

У категорії речовин рослинного походження особливої уваги вимагають такі речовини як флавоноїди. Флавоноїди – це хімічні речовини рослинного походження, що проявляють різні форми біологічної дії та містяться у багатьох органах та частинах великої кількості рослинних організмів. Флавоноїди відрізняються між собою особливостями структури сполук з чого власне й впливає їх різниця у біоактивності та біодоступності. Вони проявляють широкий комплекс корисних властивостей, таких як, протипухлинні, антимікробні (антисептичні), антиканцерогенні, антиоксидантні та протизапальні, що вже використовуються у багатьох напрямках терапії та досліджень у сфері медицини [2].

Станом на сьогоднішній день різними дослідниками було ідентифіковано більше 10000 сполук, що належать до цієї групи. В залежності від хімічної структури флавоноїди поділяються на такі класи сполук: флавонони, флаволи, флавоноли, флавоон-3-оли, антоціани та ізофлаволи [3].

Щодо поширення у продуктах харчування, варто зазначити, що найбільш розповсюдженим є клас флавоноли. Вони містяться у значних кількостях у цибулі, капусті, броколі, а також у таких напоях як журавлиний та яблучний соки, червоне вино та навіть у чаї, проте у спеціальній глікозидній формі, здебільшого із глюкозою (або рамнозою) [4].

Якщо розглядати відомих представників цього класу, то безумовно тут особливої уваги заслуговує кверцетин. Назва цієї речовини походить від латинського слова «Quercetum», що перекладається як «дубовий ліс».

Хімічна назва кверцетину за номенклатурою IUPAC – 2-(3,4-дигідроксифеніл)-3,5,7-тригідроксихромен-4-он. Речовина являє собою порошок жовтого кольору. За кімнатної температури є малорозчинним у воді

(менше ніж 1 мг/мл); добре розчиняється у таких органічних розчинниках як: метанол та ефір. Розчиняється також в етанолі, ацетоні, оцтовій кислоті [5].

У наукових колах кверцетин відомий тим, що володіє цілим каскадом корисних властивостей, які вже знайшли своє використання у різних сферах медицини. Широко досліджуються його протизапальна, протівірусна, антибактеріальна, нейро- та кардіопротекторна, антиоксидантна та антидіабетична активності, а також досить недавно з'явилися дослідження, присвячені його антиканцерогенному ефекту до різних ліній ракових клітин [6]. Окрім великої кількості активностей, що проявляє кверцетин, перевагою його застосування у медицині є притаманний багатьом представникам флавоноїдів — низький рівень токсичності [7].

Антиканцерогенний ефект кверцетину проявляється у вигляді, каталізуючої апоптоз пухлинних клітин, дії, що, власне, і дозволяє гальмувати розвиток деяких різновидів раку у людини, причому за низької або ж узагалі відсутньої побічної дії на не ракові клітини [8]. Це підтверджується багатьма доклінічними дослідженнями *in vivo* та *in vitro*, однак клінічних досліджень на тему антиканцерогенної дії кверцетину було проведено мало, а результати цих досліджень не вражають однозначністю [8, 9].

З огляду на достатню кількість уваги до антидіабетичної дії кверцетину, було проведено огляд та мета-аналіз даних опублікованих раніше досліджень. Мохаммед Буле з колегами писали у своїй роботі, що «Мета-аналіз рівня глюкози в сироватці крові (мг/дл) показав, що при дозах 10, 25 і 50 мг/кг спостерігалася достовірна різниця між середніми значеннями» (Mohammed Bule, 2019). Таким чином, отримані результати підтверджують розглянуту гіпотезу про те, що кверцетин знижує рівень глюкози в сироватці крові [10].

Загалом, кверцетин широко цитується як «універсальний антиоксидант». Дун Сюй та колеги у своєму дослідженні писали, що «Антиоксидантна активність кверцетину в основному проявляється через його вплив на глутатіон,

ферментативну активність, шляхи передачі сигналів та активні форми кисню, спричинені екологічними та токсикологічними факторами» (Dong Xu, 2019). Таким чином, виходячи з такого роду антиоксидантної дії кверцетину, з'явився інтерес до досліджень його можливих нейро- та кардіопротекторних властивостей [11].

Задля підтвердження наявності нейропротекторних властивостей кверцетину, було досліджено *in vivo* вплив застосування кверцетину при травмах спинного мозку. Його використання сприяло регенерації відростків нервових клітин, нормалізації рухової здатності, при тому покращуючи показники електрофізіологічної активності. Аналогічно при травмах сідничного нерву, спостерігалось швидше відновлення сенсорної та моторної функцій, що відбувалось при зменшенні м'язової атрофії. Незважаючи на те, що клінічних досліджень нейропротекторної функції кверцетину досі небагато, дані отримані *in vivo* свідчать про його позитивний вплив на функціональність нервової системи [12].

Інтерес до кардіопротекторних властивостей кверцетина викликаний з огляду на той факт, що різноманітні серцево-судинні захворювання досі є найбільш поширеною причиною смертності людей по всьому світу, причому їх кількість продовжує збільшуватись [13]. Численні дослідження показують, що кверцетин може бути застосований як агент для боротьби з такими захворюваннями серцево-судинної системи як: гіпертонія (шляхом зниження підвищеного артеріального тиску) [14], атеросклероз (покращуючи кровообіг у судинах), гострого інфаркту міокарду (це пояснюється дозозалежним підвищенням рівню оксиду азоту в ендотеліальних клітинах, що дозволяє захистити серце при ішемічному і реперфузійному ураженнях, а також модуляцією імунної системи за рахунок гальмування деяких прозапальних цитокінів (IL-1b і IL-8 тощо) [13, 15, 16].

Щодо механізму антибактеріальної дії, то було доведено, що кверцетин пригнічує ріст різних штамів бактерій, впливає на інтенсивність синтезу їх

нуклеїнових кислот та білків, знижує експресію факторів вірулентності. Також, окремо варто сказати про те, що кверцетин має пригнічуючий вплив і на штами бактерії, що є стійкими до лікарських препаратів [17]. Це може бути важливо у контексті боротьби проти внутрішньолікарняних інфекцій.

Окрім вище описаної антибактеріальної дії, було показано, що кверцетин проявляє широкий спектр антивірусної активності. Кверцетин потенційно може бути застосований не лише як агент для боротьби з вірусами, а і як засіб, що може бути використаний у поєднанні з іншими противірусними препаратами, задля посилення їхнього ефекту, або ж задля пригнічення їх побічної дії. Значна кількість різних досліджень *in vitro* вказує на ефективність застосування кверцетину у боротьбі з різними відомими родинами вірусів людини, зокрема і з родиною *Corona viridae*, однак, на жаль, досі проведено мало досліджень на людях [18].

При написанні даного теоретичного огляду, особливу увагу було приділено вивченню протизапальної активності кверцетину в контексті розширення показів клінічного застосування.

Попри те, що слово «запалення» зазвичай викликає негативні асоціації — не варто забувати про важливість цього процесу у контексті здоров'я та виживання організму. Розуміння зазначеного є необхідним задля коректного визначення цього терміну. Це є ключовим з огляду на часто необдумане, надмірне використання препаратів з протизапальною активністю, що може давати зворотній ефект, перешкоджаючи природнім процесам відновлення [19].

Тож, термін «запалення» можна використовувати задля опису процесу, що виникає внаслідок захисної реакції просякнutoї судинами тканини у відповідь на чужорідні агенти чи власне пошкодження тканин [20].

Досить широкий спектр прозапальних медіаторів системи кровообігу, запальних клітин та пошкоджених тканин модулює запальну реакцію в організмі чи тканині. До речовин цієї групи належать такі речовини як вазоактивні аміни

(гістамін та серотонін), пептиди (брадикінін) та ейкозаноїди (тромбоксани, лейкотрієни та простагландини).

Гістамін у відносно незначній кількості (близько кількох пікограм) виділяється базофілами задля підтримки перебігу гострої фази запального процесу.

Серотонін синтезується шляхом декарбоксілювання триптофану та подразнює чутливі до нього рецептори (5-НТ1, 5-НТ2, 5-НТ3, та 5-НТ4), що позиціонує його як провідного клітинного медіатора запалення [21].

Нанопептид брадикінін, аналогічно до гістаміну та серотоніну може посилювати синтез простагландинів та провокувати локальну біль.

Щодо ейкозаноїдів, то одним із найбільш важливих субстратів у їх синтезі є арахідонова кислота, яка до того ж являє собою основний структурний елемент мембранних фосфоліпідів усіх клітин. До ейкозаноїдів належать такі речовини як: лейкотрієни, що є продуктами 5-ліпооксигенази (5-ЛОГ), а також простагландини та тромбоксани як продукти циклооксигенази (ЦОГ) [22].

Лейкотрієни є потужними медіаторами запалення, що викликають, наприклад, хемотаксис фагоцитів і підвищену проникність судин. Вони можуть мати вплив на велику кількість характеристик дихальних шляхів під час астми [23], тому блокатори їх синтезу або їхні антагоністи є важливими з точки зору лікування цього хронічного захворювання дихальних шляхів [24].

Простагландини та тромбоксани, що утворюються унаслідок вивільнення арахідонової кислоти та її подальшої циклооксигеназної метаболізації, впливають на багато біологічних процесів, включаючи запалення та імунну відповідь.

Якщо ж мова йде про непошкоджені тканини, то рівень простааноїдів у них є низьким, на відміну від гострого запального процесу, коли їх кількість різко підвищується, що передуює залученню імунних клітин до місця запалення [25].

У своїй роботі П. Фалардо та співавтори зазначали, що «нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) відомі тим, інгібують ЦОГ, та як наслідок,

блокують синтез усіх простаноїдів» (P Falardeau, 1984). З огляду на потужність дії НПЗП, було зроблено висновок про те, що простаноїди мають переважаючий вплив на поширення запалення [25]. Власне до таких препаратів і належить кверцетин.

Ще у 1998 році дослідями *in vitro* було показано інгібуючий ефект кверцетину щодо епідермальної циклооксигенази (ЦОГ) та ліпооксигенази (ЛОГ), причому з більш помітним впливом на останню [26]. Наступні дослідження *in vivo* підтвердили наявність протизапальних властивостей у кверцетину. Щурам у спину було нанесено повітряні мішечки та введено карагенан. Гістологічне дослідження у щурів, яким попередньо вводили кверцетин у дозі 10 мг/кг, показало достовірне зниження запалення у тканинах сумки щурів, порівняно із тваринами, що отримували звичайний розчинник без препарату [27].

Також було наведено експериментальне підтвердження того, що кверцетин суттєво пригнічує синтез оксиду нітрогену (NO) та TNF-alpha, що продукується макрофагами, та спричиняє ряд патофізіологічних станів під час гострого та хронічного запалень [28].

До того ж за допомогою дослідів *in vitro* було показано його можливе застосування для лікування хвороби Паркінсона, шляхом зменшення, опосередкованій запаленням, кількості загиблих дофамін-продукуючих нейронів головного мозку [29].

Результати ще одного дослідження показали, що шляхом блокування сигнального шляху фосфоінозитид-3-кінази, кверцетин проявляє інгібуючий ефект щодо експресії ЦОГ-2 та, як наслідок, протгландину E2, що індукувалось відомим металоїдним канцерогеном арсенітом [30].

У дослідженнях антисклеротичних ефектів кверцетину використовувались ендотеліальні клітини пупкової вени людини, окислювальне пошкодження яких було індуковане пероксидом водню. Втрата життєздатності ендотеліальних клітин

помітно відновлювалась унаслідок обробки кверцетином, до того ж це відбувалось концентраційно-залежним способом [31].

У цього річного дослідженні було показано *in vitro*, що кверцетин шляхом зв'язування із численними мішенями IL-6, TNF-alpha, ALB, AKT1 та IL-1b та впливу на сигнальні шляхи IF-1, TNF NF-кВ, а також впливу на NOD-подібні рецептори – полегшує сипмтомику сепсису, пов'язаного з гострим респіраторним дистрес-синдромом, послаблюючи запалення, інгібуючи клітинний апоптоз та зменшуючи оксидативний стрес [32].

У моделях асептичного запалення виявлено особливості антиексудативної дії кверцетину та його механічної композиції з диклофенаком щодо впливу різних флогенів (табл. 1.1). Згідно з цими даними, навіть за збереження дозового режиму обох компонентів, для композиції кверцетину з диклофенаком не спостерігається синергізм протизапального ефекту.

Таблиця 1.1 – Протизапальна дія кверцетину, диклофенаку та композиції кверцетину з диклофенаком (визначення за ступенем зменшення запалення стопи у щурів, n=200)

Речовина	Доза, мг/кг	Карагенін, мг	Гістамін, мг	Серотонін, мг	Простагландин E2, мг
Кверцетин	11,2	15,8	17,9	12,4	7,7
Диклофенак	7,0	52,2	21,8	25,9	34,0
Композиція	18,2	61,7	32,3	27,0	31,9

Узагальнюючи вище наведені дані та дані деяких інших досліджень, протизапальну дію можна кверцетину можна описати, як дію НПЗП, які при зв'язуванні із такими прозапальними ферментами як ЦОГ та ЛОГ – сприяють зменшенню прозапальної активності останніх. До того ж така дія сприяє

зниженню синтезу таких медіаторів запалення як простагландини та лейкотрієни, що також дозволяє зменшити запалення.

Однак така дія не підтверджена синергізмом чи підсилюючим ефектом кверцетину з іншими відомими препаратами [33-34].

РОЗДІЛ 2. Drug delivery systems кверцетину

Фізико-хімічні властивості кверцетину доводять, що в особливості фенольне (А кільце) та флаванонове (В кільце) кільця хімічної структури кверцетину, що до того ж є спряженими ароматичними кільцями, містять подвійні зв'язки які визначають схильність кверцетину до переважної реалізації водневих та гідрофобних взаємодій, що власне і обумовлює його гідрофобність. Загалом, з цього випливає практична нерозчинність кверцетину у фізіологічно адекватних системах, наприклад — у воді, що різко обмежує абсорбцію та біодоступність його субстанції (менше 5 % у пероральних формах) та апріорно унеможлиблює клінічне застосування при тяжких захворюваннях зі зруйнованим комплаєнсом пацієнтів [35-36].

Пропонована у цій роботі приваблива доцільність фармакотерапевтичного використання політропних властивостей кверцетину для лікування запалень привертає увагу до транспортних форм кверцетину згідно сучасного наративу «Систем транспорту ліків» (Drug delivery systems) [37].

Описані транспортні композиції кверцетину з сумішшю тетраборату натрію з трилоном Б, низкою підкислювачів, ароматизаторів і барвників [38]. Узагальненим недоліком цих композицій є присутність переважаючих кількостей екзогенних ексципієнтів та нестабільність, що погіршує застосовність і безпеку потенційного парентерального застосування.

Відомі композиції кверцетину на основі фосфоліпідних носіїв: фосфатидилхоліна та його сумішей з фосфатидилхолінетаноламіном або фосфатидилхолінетаноламін дистеаратом у присутності низки добавок [39-42]. Описано також композицію кверцетину із «сурогатним сурфактантом», що, на відміну від ендogenous сурфактанту, включає штучну суміш фосфатидилхоліну із варіаціями поверхнево-активних добавок та сорбентів [43].

Присутність у цих системах спектру добавок (часто несумісної хімічної природи), що загалом суперечить принципу Окама («сутності не повинні примножуватися»), негативно впливає на однорідність фазового стану аж до унеможливлення утворення стабільної транспортної структури. У сполученні із не фізіологічністю частини компонентів, цей фактор ставить під сумнів функціонал і безпечність парентеральних способів уведення таких композицій. Цим можна пояснити те, що жоден із згаданих фосфоліпідних продуктів кверцетину не наблизився до статусу лікарського засобу із доведеним ефектом, відсутнім шкідливим впливом та фармацевтичною якістю.

Слід зазначити, що до транспортних форм природних поліфенолів, зокрема кверцетину, можна віднести комплекси з есенціальними металами (цинком, міддю, залізом), в яких флавоноїду відведено роль іонофора [44, 45]. *In vitro* показано, зокрема, що комплексоутворення із катіоном цинку сприяє проходженню кверцетину крізь модельну клітинну мембрану, яка імітована моношаровою ліпосоною [46]. Транспортна роль комплексу кверцетину із цинком – безперечно розширює розуміння важливого фізіологічного статусу цього біометалу [47, 48], але досі відсутня інформація про фармакологічно ідентифіковані системи кверцетину з цинком, які б мали прогноз клінічної трансляції. Власне створення подібних систем та дослідження їх протизапальної дії може відкривати подальшу перспективу для продовження та розширення даної роботи.

Відомі системи транспорту кверцетину з полівінілпіролідом [16, 49]. Композиція [16] описана як комплекс кверцетину з повідомом (в якому, поряд з хімічним зв'язком, не виключено внесок сорбційних властивостей полівінілпіролідону). Цей транспортний комплекс кверцетину з повідомом в присутності натрію гідроксиду пропонується у ліцензованому препараті «Корвітин» для приготування розчину для ін'єкцій/інфузій при застосуванні у комплексній терапії серцево-судинних захворювань.

До інновацій сучасної фармації віднесені системи транспорту ліків на ліпосомальній платформі [50]. Розробки більше 70 ліцензованих у світі ліпосомальних препаратів (у т.ч. вакцини Pfizer-BioNTech та Moderna проти Covid-19) стосуються також ліпосомальних продуктів, що містять кверцетин.

Відома композиція кверцетину у фосфатиділхолінових ліпосомах [51, 52], яка становить основу ліцензованого препарату «Ліпофлавон» [53]. Ліпофлавон у формі розчину для ін'єкцій/інфузій використовується як кардіопротектор у кардіологічній (гострий інфаркт міокарда, стенокардія) та в онкологічній клініці (кардіоміопатія внаслідок поліхіміотерапії раку молочної залози). В офтальмологічній клініці встановлено лікувальну дію очних крапель Ліпофлаону при кератитах, очних травмах і опіках.

Відсутні відомості про протизапальну дію Ліпофлаону та Корвітину як транспортних систем кверцетину за різних шляхів введення. Така «інформаційна лакуна» жодним чином не компрометує відому фармакотерапевтичну ефективність Ліпофлаону та Корвітину, але орієнтація на ці системи транспорту може вперше виявити потенційно високий функціонал кверцетину при запаленнях. Відповідно, залучення Ліпофлаону та Корвітину до виконання цієї може вирішити актуальну задачу розширення ареалу клінічного застосування безпечних лікарських засобів кверцетина, які за парентерального способів уведення до організму проявляють протизапальну дію.

РОЗДІЛ 3. Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

3.1 Матеріали дослідження

Препарат Ліпофлавон (серія 11301321, АТ «Фармстандарт-Біолік»). Форма: ліофілізований порошок. Склад: лецитин-стандарт (у перерахуванні на лецитин) – 550 мг, кверцетин (у перерахуванні на суху речовину) – 15 мг, допоміжна речовина – лактози моногідрат. Препарат зберігається при температурі від (-20,0) °С до (-10,0) °С.

Препарат Корвітин (серія 0540123, НВЦ «Борщагівський ХФЗ»). Форма: ліофілізований порошок. Склад: кверцетин (у перерахуванні на суху речовину) – 50 мг, полівінілпролідон (повідон) – 450 мг, допоміжна речовина – гідроксид натрію. Препарат зберігається при температурі, що не перевищує 25 °С.

Експерименти на тваринах проведено відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і Закон України Про захист тварин від жорстокого поводження (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст.230) [54, 55]. У фармакологічних дослідженнях використовували білих нелінійних мишей віком (8 – 10) тижнів та вагою (18 – 23) г обох статей із розведення віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Після карантину протягом 7 діб дослідних та контрольних тварин розподіляли у групи за методом рандомізованих номерів. Ідентифікацію тварин проводили з використанням системи індивідуальних кольорових міток на тілі. Тварин утримували у приміщенні за наступних умов: температура (20 – 24) °С, вологість (30 – 70)%, цикл освітлення (12 год. світло/12 год. темрява). Миші були розміщені у пластикових клітках по 1 тварині з вільним доступом до корму та води. У

якості підстилки використовували попередньо автоклавовані стружки вільхи (*Alnus glutinosa*) [54].

3.2 Методи дослідження

При виконанні науково-дослідної роботи були використані фізико-хімічні, фармакологічні та статистичні методи досліджень.

Із застосуванням низки незалежних фізико-хімічних методів проведено якісну та кількісну ідентифікацію кверцетину у Корвітині та підтверджено його ліпосомальний статус у складі Ліпофлакону, а саме:

- спектрофотометричним методом за характеристичним поглинанням при довжинах хвиль (255-259) нм, (373-377) нм і (300 — плече) нм та показником оптичної густини при довжині хвилі (256±2) нм розчину продукту в етиловому спирті у порівнянні із таким розчину стандартного зразку кверцетину (ідентифікація та кількісне визначення кверцетину, відповідно);
- методом рідинної хроматографії на SupelcoSi колонці за хроматограмами емульсії продукту до та після гель-фільтрації на колонці Sephadex G-25 з контролем виходу ліпосом за поглинанням при 540 нм. Для калібрування та порівняння використано площу піків на хроматограмі стандартів (контроль входження кверцетину до ліпосом);
- методом лазерної дифракції емульсії тест-зразків на приладі Malvern Zetasizer NanoZS (визначення розміру ліпосом та їх розподілу за розмірами в емульсії Ліпофлакону).

Протизапальну активність Ліпофлакону та Корвітину визначали у моделі ексудативного запалення (карагеніновий набряк) у білих нелінійних мишей, що були розділені на групи по 5 тварин в кожній. Досліджувані сполуки вводили одноразово внутрішньовенно або інгаляційно.

Карагеніновий набряк моделювали шляхом субплантарного введення 0,05 мл 1-% розчину карагеніну [56]. Через 3 години тварин виводили з

досліді шляхом мортифікації, далі на рівні тазостегнових суглобів ампутували набряклі та не набряклі задні стопи.

Активність досліджуваних речовин визначали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку в порівнянні з контролем (інтактні тварини) та виражали у відсотках ступінь пригнічення ексудативного набряку у порівнянні з контролем, де величина набряку приймається за 100%.

Антиексудативну активність розраховували за формулою 3.1:

$$A = (M_{нд} - M_{зд}) / (M_{нк} - M_{зк}) * 100\% - 100\%, \quad (3.1),$$

де A – антиексудативна активність;

$M_{нд}$ – маса набряклої стопи у досліді;

$M_{зд}$ – маса здорової стопи у досліді;

$M_{нк}$ – маса набряклої стопи у контролі;

$M_{зк}$ – маса здорової стопи у контролі.

Досліджувані препарати були введені за схемою:

1. Внутрішньовенно – за 15 хв. до моделювання ексудативного запалення;
2. Інгаляційно – за 30 хв. до моделювання ексудативного запалення (тривалість інгаляції 30 хв.).

Усі експериментальні процедури відповідають вимогам Методичних рекомендаціям Державного фармакологічного центру МОЗ України та біоетичних стандартів [56].

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та з використанням t-критерію Стьюдента [57]. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при значенні $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 4. Результати та їх обговорення

За результатами фізико-хімічних аналізів підтверджено індивідуальність та збереження нативності природи кверцетину у складі препаратів, а також його кількісне включення до ліпосом Ліпофлакону: характеристичні спектри поглинання кверцетину у Ліпофлаконі та Корвітині представлено на рис. 4.1 та рис. 4.2.

==SHIMADZU UV ANALYSIS REPORT==

Показник: спектр поглинання

Назва препарату: Корвітин

C_{кв} = 0.0075 мг/мл

Дата аналізу: 24.01.2024

Прилад: Shimadzu UV-1800 (№12)

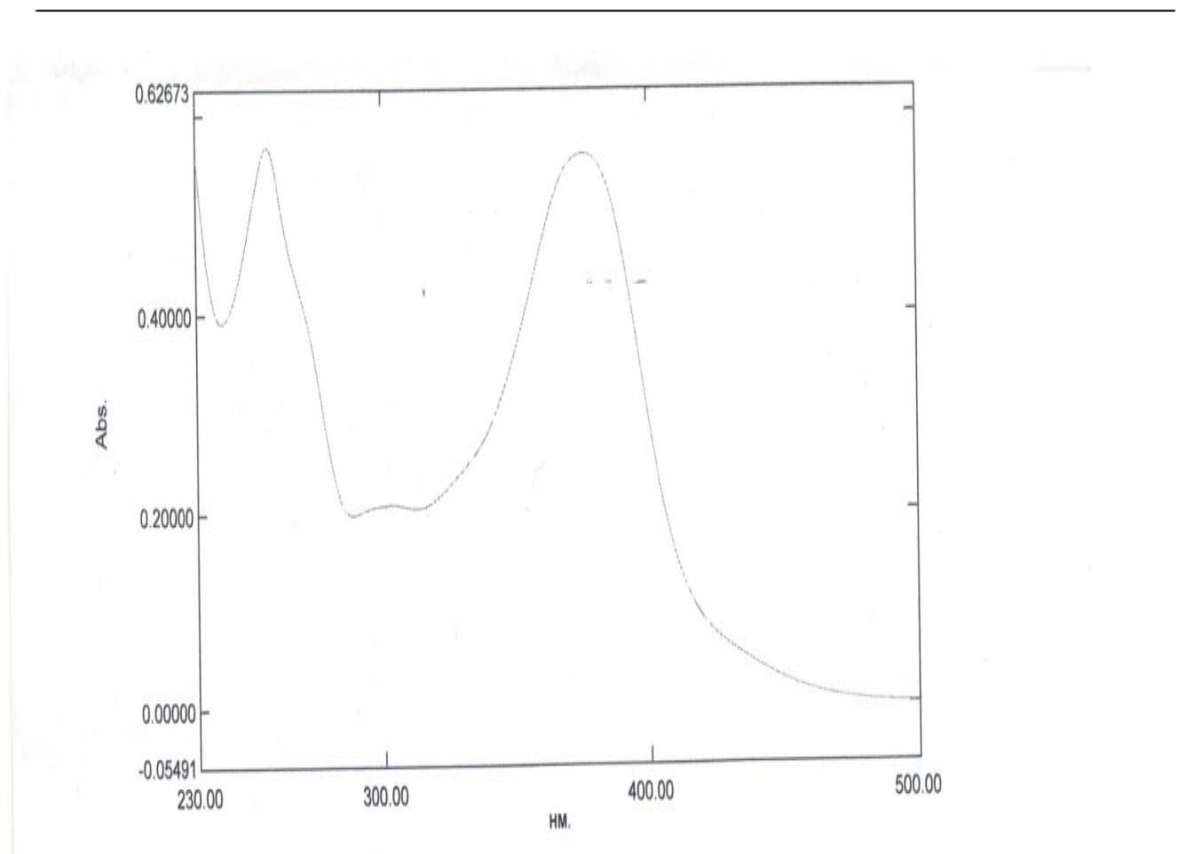


Рисунок 4.1 – Спектр поглинання препарату Корвітин.

==SHIMADZU UV ANALYSIS REPORT==

Показник: спектр поглинання

Назва препарату: Ліпофлавон

C_{кв} = 0.0075 мг/мл

Дата аналізу: 23.02.2024

Прилад: Shimadzu UV-1800 (№12)

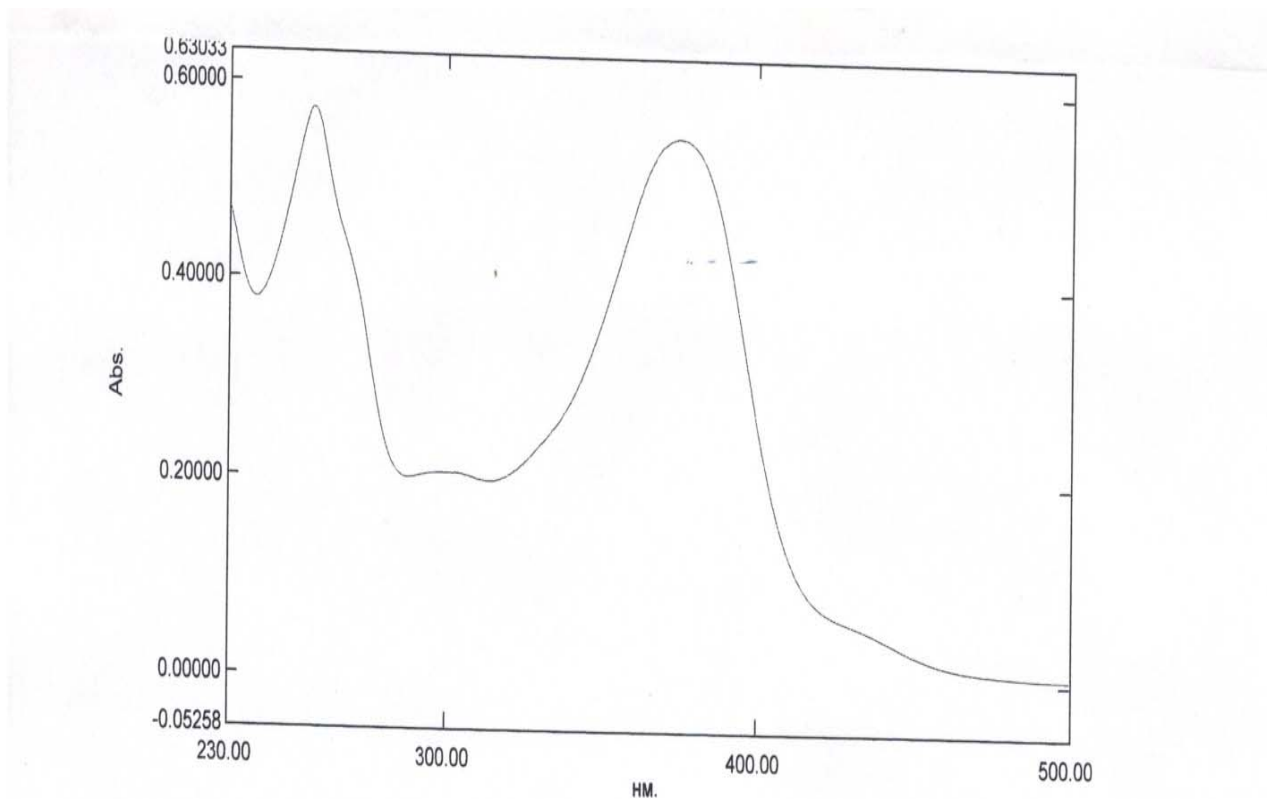


Рисунок 4.2 – Спектр поглинання препарату Ліпофлавон.

Антиексудативну активність обраних систем транспорту кверцетину за парентерального введення вивчали в моделі карагенінового набряку, що характеризує циклооксигеназний шлях запалення [58].

Внутрішньовенне введення Ліпофлаону через три години після індукції набряку лап тварин викликало достовірне зниження рівня ексудативного

запалення з (-37,09) % до (-63,43) %, що може бути пов'язано з інгібіцією ензимів (5-ЛОГ), медіаторів запалення та викиду гістаміну [60]. Для протизапальної дії Ліпофлакону характерна лінійна залежність «доза-ефект»: зростання ефекту від (-37,09) % до 63,43 % при поступовому збільшенні дози від 3,9 до 15,2 мг/кг (за вмістом кверцетину) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Антиексудативна активність Ліпофлакону при одноразовому внутрішньовенному введенні на моделі карагенінового набряку (n=5)

Сполука, шлях введення	Доза, мг/кг*	Величина набряку в контролі: у.о., M±m	Величина набряку в досліді: у.о., M±m	Відсоток інгібіції набряку, %
Ліпофлакон в/в	3,8	71,14 ± 17,17	49,00 ± 11,36	-37,09
Ліпофлакон в/в	7,6	71,14 ± 17,17	30,44 ± 18,42	-57,21 [#]
Ліпофлакон в/в	15,2	71,14 ± 17,17	26,02 ± 17,17	-63,43 [#]

Примітка. * – доза за кверцетином, # – p < 0,05.

Корвітину також притаманна протизапальна дія за внутрішньовенного введення в моделі ексудативного карагенінового набряку (табл. 4.2), хоча його антиексудативний ефект поступається такому як у Ліпофлакону, залежність «доза-ефект» має хаотичний характер.

Переваги протизапальної дії Ліпофлакону проявляються у всьому діапазоні використаних доз (однакових для обох) та є найбільш суттєвими за використання найменшої дози 3,8 мг/кг (за вмістом кверцетину), коли протинабряковий ефект Ліпофлакону є значущим (-37,09%), тоді як дія Корвітину практично нівелюється.

Таблиця 4.2. – Антиексудативна активність Корвітину при одноразовому внутрішньовенному введенні на моделі карагенінового набряку (n=5)

Сполука, шлях введення	Доза, мг/кг*	Величина набряку в контролі: у.о., M±m	Величина набряку в досліді: у.о., M±m	Відсоток інгібіції набряку, %
Корвітин в/в	3,8	72,74 ± 2,63	72,06 ± 3,03	-0,93
Корвітин в/в	7,6	72,74 ± 2,63	45,28 ± 3,07	-37,75 ¹
Корвітин в/в	15,2	72,74 ± 5,46	39,92 ± 3,71	-45,11 ¹

Примітка. * – доза за кверцетином, # – p < 0,05.

У випадку досліджених транспортних систем кверцетину факторами впливу можуть бути, скоріше, переваги таргетності доставки кверцетину у складі ліпосом Ліпофлакону порівняно із необхідністю його десорбції із матриці повідона у складі Корвітину.

ВИСНОВКИ

1. У випускній кваліфікаційній роботі бакалавра на основі огляду наукової літератури було наведено теоретичне обґрунтування актуальності вибору теми, а також доцільність дослідження кверцетину та його біологічної дії, переваг та недоліків використання у клінічній практиці, до того ж була надана характеристика способам його доставки до таргетних органів і клітин, та препаратам, що були розроблені на цій основі.

2. На основі інформаційного аналізу фармакотерапевтичних властивостей, фізико-хімічних особливостей та складу відомих у світі drug delivery systems обґрунтовано вибір лікарських засобів Ліпофлавіон і Корвітин для виконання досліджень як систем транспорту кверцетину з оптимальними характеристиками.

3. За результатами виконаної роботи було оцінено протизапальну активність систем транспорту кверцетину за внутрішньовенного та інгаляційного введення Ліпофлавіона та Корвітина в моделі карагенінового набряку, що характеризує циклооксигеназний механізм запалення.

4. Було встановлено лінійну залежність «доза-ефект» протизапальної дії за внутрішньовенного введення Ліпофлавіону із зростанням ефекту від (-37,09) % до (-63,43) %.

5. Протизапальна дія Корвітину за внутрішньовенного введення поступається такій у Ліпофлавіону, а залежність «доза-ефект» має хаотичний характер.

6. Переваги протизапальної дії Ліпофлавіону виявляються найбільш суттєвими за найменшої дози 3,8 мг/кг (за вмістом кверцетину): протинабряковий ефект Ліпофлавіону є значущим (-37,09) %, а дія Корвітина практично нівелюється.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev.* 2016 Jul-Dec;10(20):84-89. Doi: 10.4103/0973-7847.194044.
2. Ullah A, Munir S, Badshah SL [et al.]. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules.* 2020 Nov 11; 25(22):5243. doi: 10.3390/molecules25225243.
3. Kozłowska A, Szostak-Wegierek D. Flavonoids--food sources and health benefits. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2014;65(2):79-85.
4. M. Murkovic. Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00539-0>.
5. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 5280343, Quercetin. Retrieved June 16, 2024. Режим доступу: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>.
6. Salehi B, Machin L, Monzote L [et al.]. Therapeutic Potential of Quercetin: New Insights and Perspectives for Human Health. *ACS Omega.* 2020 May 14;5(20):11849-11872. doi: 10.1021/acsomega.0c01818.
7. Havsteen, B. H. The biochemistry and medical significance of flavonoids [Text] / B. H. Havsteen // *Pharmac. Ther.* – 2002. – V. 96, Is. 2–3. – P. 67 -202.
8. Rauf A, Imran M, Khan IA, Ur-Rehman M, Gilani SA, Mehmood Z, Mubarak MS. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phytother Res.* 2018 Nov;32(11):2109-2130. doi: 10.1002/ptr.6155.
9. Lotfi N, Yousefi Z, Golabi M [et al.]. The potential anti-cancer effects of quercetin on blood, prostate and lung cancers: An update. *Front Immunol.* 2023 Feb 28; 14:1077531. doi: 10.3389/fimmu.2023.1077531.
10. Bule M, Abdurahman A, Nikfar S, Abdollahi M, Amini M. Antidiabetic effect of quercetin: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Food Chem Toxicol.* 2019 Mar; 125:494-502. doi: 10.1016/j.fct.2019.01.037.

11. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application [Text] / Dong Xu, Meng-Jiao Hu, Yan-Qiu Wang, and Yuan-Lu Cui// Journal List Molecules – 2019. – doi: 10.3390/molecules24061123.
12. Fideles SOM, de Cássia Ortiz A, Buchaim DV [et al.]. Influence of the Neuroprotective Properties of Quercetin on Regeneration and Functional Recovery of the Nervous System. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jan 7;12(1):149. doi: 10.3390/antiox12010149.
13. Nazari-Khanamiri, Fereshteh, Ghasemnejad-Berenji, Morteza, Quercetin and Heart Health: From Molecular Pathways to Clinical Findings, *Journal of Food Biochemistry*, 2023, 8459095, 9 pages, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/8459095>.
14. Larson AJ, Symons JD, Jalili T. Quercetin: A Treatment for Hypertension? —A Review of Efficacy and Mechanisms. *Pharmaceuticals*. 2010; 3(1):237-250. <https://doi.org/10.3390/ph3010237>.
15. Protective mechanism of quercetin on acute myocardial infarction in rats [Text] / B. Li1, M. Yang, J.W. Liu and G.T. Yin // *Genetics and Molecular Research*. – 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15017117>.
16. Корвітин® (Corvitin®). Інструкція. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/281727/>.
17. Nguyen TLA, Bhattacharya D. Antimicrobial Activity of Quercetin: An Approach to Its Mechanistic Principle. *Molecules*. 2022 Apr 12;27(8):2494. doi: 10.3390/molecules27082494.
18. Di Petrillo A, Orrù G, Fais A, Fantini MC. Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review. *Phytother Res*. 2022 Jan;36(1):266-278. doi: 10.1002/ptr.7309.
19. Oronsky B, Caroën S, Reid T. What Exactly Is Inflammation (and What Is It Not?). *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 28;23(23):14905. doi: 10.3390/ijms232314905.
20. Levy JH. The human inflammatory response. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1996;27 Suppl 1: S31-7. Doi: 10.1097/00005344-199600001-00008.

21. Рєгєда М.С., Бойчук Т. С., Бондарєнко Ю.І., Рєгєда М.М. Запалєння – типовий патологїчний процес. Вид.друге, доп. та перер. – Львїв, 2013. - 148 с.
22. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018 May;11(5):627-635. doi: 10.14202/vetworld.2018.627-635.
23. Rådmark O, Samuelsson B. 5-Lipoxygenase: mechanisms of regulation. *J Lipid Res*. 2009 Apr;50 Suppl (Suppl): S40-5. doi: 10.1194/jlr.R800062-JLR200.
24. WILLIAM W. BUSSE. Leukotrienes and Inflammation [Text] / William W. Busse// *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* – 1998. – V. 157, Is. 6. doi: <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.6.mar-1>.
25. Falardeau P, Martineau A, Gagnon D. Prostaglandines et thromboxanes [Prostaglandins and thromboxanes]. *Sem Hop*. 1984 Apr 12;60(16):1117–36. French.
26. Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh VA. Effects of naturally occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea pigs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1998 Jan;58(1):17-24. doi: 10.1016/s0952-3278(98)90125-9.
27. Morikawa K, Nonaka M, Narahara M, Torii I, Kawaguchi K, Yoshikawa T, Kumazawa Y, Morikawa S. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Sci*. 2003 Dec 26;74(6):709-21. doi: 10.1016/j.lfs.2003.06.036.
28. Manjeet K R, Ghosh B. Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in murine macrophages. *Int J Immunopharmacol*. 1999 Jul;21(7):435-43. doi: 10.1016/s0192-0561(99)00024-7.
29. Bureau G, Longpré F, Martinoli MG. Resveratrol and quercetin, two natural polyphenols, reduce apoptotic neuronal cell death induced by neuroinflammation. *J Neurosci Res*. 2008 Feb 1;86(2):403-10. doi: 10.1002/jnr.21503.
30. Lee KM, Hwang MK, Lee DE, Lee KW, Lee HJ. Protective effect of quercetin against arsenite-induced COX-2 expression by targeting PI3K in rat liver

- epithelial cells. *J Agric Food Chem.* 2010 May 12;58(9):5815-20. doi: 10.1021/jf903698s.
31. Yang D, Liu X, Liu M [et al.]. Protective effects of quercetin and taraxasterol against H₂O₂-induced human umbilical vein endothelial cell injury in vitro. *Exp Ther Med.* 2015 Oct;10(4):1253–1260. doi: 10.3892/etm.2015.2713.
32. Ding W, Zhang W, Chen J [et al.]. Protective mechanism of quercetin in alleviating sepsis-related acute respiratory distress syndrome based on network pharmacology and in vitro experiments. *World J Emerg Med.* 2024;15(2):111-120. doi: 10.5847/wjem.j.1920–8642.2024.030.
33. Mahmud, A.R., Ema, T.I., Siddiquee, M.F. et al. Natural flavonols: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for various diseases. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci* 12, 47 (2023). <https://doi.org/10.1186/s43088-023-00387-4>.
34. Carrillo-Martinez EJ, Flores-Hernández FY, Salazar-Montes AM, Nario-Chaidez HF, Hernández-Ortega LD. Quercetin, a Flavonoid with Great Pharmacological Capacity. *Molecules.* 2024; 29(5):1000. <https://doi.org/10.3390/molecules29051000>.
35. Bishoff, S. C. Quercetine potential in the prevention and therapy of diseases [Text] / S. C. Bishoff // *Curr. Opin. Clib. Nutr. Metab. Cure.* – 2008. – V. 11, Is. 6. – P. 733–740.
36. Кверцетин (Quercetinum): інструкція, аналоги. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/260462/>.
37. Drug delivery systems: An updated review [Text] / G. Tiwari, R. Tiwari, B. Sriwastawa [et al.] // *Int. J. Pharm. Investig.* – 2012. – V. 2, Is. 1. – P. 2–11. doi: 10.4103/2230-973X.96920
38. Заявка WO2011019677 A1, МП (2006.01): A23L 1/00, A23L 1/30, опубл. 17.02.2011.
39. Anxiety and cognitive effects of Quer liposomes [Text] / A. Priprem, J. Watanatorn, S. Sutthiparinyanout [et al.] // *Nanomedicine: Nanotechn. Biol. And Medic.* – 2008. – V. 4, Is. 1. – P. 70–78.

40. Патент КНР CN 100367968 C, МПК: A61K 31/352; A61K 47/34; A61K 9/127; A61K 9/14; A61P 29/00; A61P 35/00; A61P 39/06; A61P 9/10, опубл. 27.02.2008.
41. Патент КНР CN 100367953 C, МПК: A61K 31/352; A61K 9/10; A61K 9/127; A61K 9/14; A61P 29/00; A61P 35/00; A61P 37/08; A61P 39/06, A61P 7/06, опубл. 13.02.2008.
42. Патент КНР CN 102058536 A, МПК: A61K 31/352; A61K 47/48; A61K 9/127; A61P 11/00, опубл. 18.05.2011.
43. Патент КНР CN 101904821 A, МПК: A61K 31/352; A61K 9/16; A61K 9/19; A61K 9/20; A61K 9/48; A61P 29/00; A61P 3/06; A61P 35/00; A61P 37/08, A61P 39/06, A61P 7/02; A61P 9/10; опубл. 08.12.2010.
44. Synthesis of Quercetin-Metal Complexes, In Vitro and In Silico Anticholinesterase and Antioxidant Evaluation, and In Vivo Toxicological and Anxiolytic Activities [Text] / W. da Silva, S. de Oliveira Pinheiro, D. Alves [et al.] // *Neurotox. Res.* – 2020. – V. 37, Is. 4. – P. 893–903. doi: 10.1007/s12640-019-00142-7.
45. Synthesis, characterization, and pharmacological evaluation of some metal complexes of quercetin as P-gp inhibitors [Text] / K. Shastrala, S. Kalam, K. Damerakonda [et al.] // *Future J. of Pharmaceutical Sciences.* – 2021. – V. 7, Is. 99. <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00252-0>.
46. A simple liposome assay for the screening of zinc ionophore activity of polyphenols [Text] / G. Clergeaud, H. Dabbagh-Bazarbachi, M. Ortiz [et al.] // *Food Chemistry.* – 2016. – V. 197, Part A. – P. 916-923. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.057>.
47. Pracad, A. S. Discovery of zinc for human health and biomarkers of zinc deficiency [Text] / A. S. Pracad // *Molecular, genetic and nutritional aspects of trace minerals.* – 2017. – P. 241-260. doi: 10.1016/B978-0-12-802168-2.00020-8.
48. Zinc-quercetin complex: From determination to bioactivity [Text] / S. Uskoković-Marković, M. Milenković [et al.] // *Acta agriculturae Serbica.* – 2015. – V. 25, Is. 50. – P. 113-120. DOI: 10.5937/AASer2050113U.

49. Пат. України № 38504 А, А61К 9/14, А61К 35/68, А61К 31/455. Кардіопротекторний засіб для лікування гострого інфаркту міокарда, спосіб його отримання та спосіб його застосування [Текст] / Н. П. Максютіна [та ін.] // Бюл. № 2, опубл. 17.03.2003.
50. Державна Фармакопея України [Текст]: в 3 т. — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т. 1. — 1128 с.
51. Пат. UA № 76393 Україна, МПК А61К 9/127; 31/353; А61К 47/44; А61Р 31/06; А61Р 31/00; А61Р 35/00. Спосіб отримання ліпосомального засобу, що містить кверцетин / О. В. Стефанов, Г. С. Григор'єва, А. І. Соловійов, Н. В. Пасечнікова, О. С. Хромов, Н. Ф. Конахович, Ю. М. Краснопольський (Україна); Інститут фармакології та токсикології АМН України. — № а200604675; заявл. 27.04.06.; опубл. 17.07.13, Бюл. № 7.
52. Пат. № UA 111762 Україна, МПК А61К 9/127; 31/353; А61К 47/44; А61Р 39/06; А61Р 9/10; А61Р 27/02. Спосіб отримання фармакологічно активного ліпосомального засобу, що містить кверцетин / Г. С. Григор'єва, Ю. М. Краснопольський, Н. Ф. Конахович, Н. В. Пасечнікова (Україна); Інститут фармакології та токсикології НАМН України. — № а201407695; заявл. 08.07.14.; опубл. 10.06.16, Бюл. № 11.
53. Ліпофлавіон (Lipoflavon) Інструкція. [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/268166/>.
54. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). [Електронний ресурс]. — Режим доступу: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text.
55. Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2006, № 27, ст.230 «Про захист тварин від жорстокого поводження» [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.

56. Доклінічні дослідження лікарських засобів [Текст]: [методичні рекомендації] / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528.
57. Лапач, С. Н. Статистика у науці і бізнесі [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Моріон, 2002. – 640 с.
58. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management [Text] / G. Carullo, A. R. Cappello, L. Frattaruolo [et al.] // Future. Med. Chem. – 2017. – V. 9, Is 1. – P. 79–93. doi: 10.4155/fmc-2016–0186.