

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)
Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (ім'я та прізвище)

« ___ » лютий 2024 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (ім'я та прізвище)

« ___ » лютий 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми «Фармацевтична біотехнологія»

на тему: Інгібітори ферментів для використання у медицині

Виконала: здобувачка 2 курсу, групи ЗБТ-2-2М

ПАЛЬКО Леся Олексіївна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) (підпис)

Керівник СТАБНІКОВ Віктор Петрович
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) (підпис)

Консультанти _____
(ім'я та прізвище) (підпис)

(ім'я та прізвище) (підпис)

(ім'я та прізвище) (підпис)

Рецензент Ірина ДІДИК
(ім'я та прізвище) (підпис)

Я, як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) незарядженої допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2024 р

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

ПАЛЬКО Лесі Олексіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Інгібітори ферментів для використання у медицині

керівник роботи СТАБНИКОВ Віктор Петрович, д.т.н., доц.,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 листопада 2023 року № 913-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Actinoplanes sp.* SIPI2207, цільовий продукт: акарбоза

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Огляд літератури; РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва субстанції для лікарського засобу; РОЗДІЛ 3. Обґрунтування етапів виділення та очищення субстанції; РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях; РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання; РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми; РОЗДІЛ 7. Контроль виробництва субстанції. РОЗДІЛ 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лікарського засобу; РОЗДІЛ 9. Матбаланс на серію ЛЗ; РОЗДІЛ 10. Специфікація обладнання; РОЗДІЛ 11. Опис технологічної схеми отримання ЛЗ; РОЗДІЛ 12. Опис лікарського засобу згідно АНД.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва - 2 аркуші формату А1; апаратурна схема виробництва - 1 аркуш формату А1.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
	<i>Огляд літератури</i>	<i>01.11.23 -13.11.23</i>	
	<i>Техніко-економічне обґрунтування виробництва субстанції для лікарського засобу</i>	<i>14.11.23-19.11.23</i>	
	<i>Обґрунтування етапів виділення та очищення субстанції</i>	<i>20.11.23-26.11.23</i>	
	<i>Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях</i>	<i>27.11.23-4.12.23</i>	
	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>5.12.23-8.12.23</i>	
	<i>Опис технологічної схеми</i>	<i>9.12.23-12.12.23</i>	
	<i>Контроль виробництва субстанції</i>	<i>13.12.23-15.12.23</i>	
	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання лікарського засобу</i>	<i>16.12.23-18.12.23</i>	
	<i>Матбаланс на серію ЛЗ</i>	<i>19.12.23-21.12.23</i>	
	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>22.12.23-26.12.23</i>	
	<i>Опис технологічної схеми отримання ЛЗ</i>	<i>27.12.23 - 3.01.24</i>	
	<i>Опис лікарського засобу згідно АНД</i>	<i>4.01.24-11.01.24</i>	
	<i>Оформлення пояснювальної записки</i>	<i>12.01.24-17.01.24</i>	
	<i>Виконання графічної частини роботи</i>	<i>18.01.24-20.01.24</i>	

Здобувач _____
(підпис)

Леся ПАЛЬКО
(ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____
(підпис)

Віктор СТАБНІКОВ
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена біотехнології інгібіторів ферментів та розробленню технологічної та апаратурної схеми виробництва інгібітора альфа-глюкозидази акарбози.

Обґрунтовано вибір технологічної схеми отримання акарбози – етапи виділення та очищення субстанції та отримання готового лікарського засобу у вигляді таблеток. Обрано штам, який є найкращим продуцентом акарбози – *Actinoplanes sp. SIPI2207*, який є найбільш економічно вигідним з концентрацією цільового продукту 8,04 г/л. Розрахована річна потужність виробництва становить 1680 г на рік. Технологія виробництва лікарського засобу на основі акарбози складається з допоміжних робіт (санітарна підготовка виробництва, підготовка вентиляційного повітря, приготування допоміжних розчинів) та технологічних процесів (відділення біомаси, ультрафільтрація, катіонообмінна хроматографія, знебарвлення, концентрування, сушіння, подрібнення, підготовка сировини, змішування, ущільнення, опудрювання, таблетування та фасування). Розраховано втрати по стадіях технологічного процесу. Наведено опис та методики контролю субстанції та лікарського засобу.

Кваліфікаційна робота складається з 12 розділів (128 сторінок друкованого тексту), 109 джерел використаної літератури та графічної частини (технологічна та апаратурна схеми).

Ключові слова: акарбоза, *Actinoplanes sp. SIPI2207*, рак, інгібітори ферментів, виготовлення таблеток.

ABSTRACT

The Master's thesis is devoted to the biotechnology of enzyme inhibitors and the development of a technological and hardware scheme for the production of an alpha-glucosidase inhibitor, acarbose.

The choice of the technological scheme for the production of acarbose, including the stages of isolation and purification of the substance and the production of the finished drug in the form of tablets, is substantiated. The strain that is the best producer of acarbose, *Actinoplanes sp. SIPI2207*, which is the most cost-effective with a concentration of the target product of 8.04 g/l, was selected. The estimated annual production capacity is 1680 g per year. The technology for the production of an acarbose-based medicinal product consists of auxiliary works (sanitation of the production facility, preparation of ventilation air, preparation of auxiliary solutions) and technological processes (biomass separation, ultrafiltration, cation exchange chromatography, decolouration, concentration, drying, grinding, raw material preparation, mixing, compaction, dusting, tableting and packaging). The losses by stages of the technological process are calculated. The description and methods of control of the substance and the medicinal product are given.

The qualification work consists of 12 chapters (128 pages of printed text), 109 sources of references and a graphic part (technological and hardware diagrams).

Key words: acarbose, *Actinoplanes sp. SIPI2207*, cancer, enzyme inhibitors, tablet manufacturing.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	9
1.1 Загальна характеристика та властивості інгібіторів ферментів	9
1.1.1 Механізми інгібування	9
1.1.2 Характеристика типів інгібіторів	11
1.2 Відкриття та конструювання інгібіторів.....	13
1.3 Технології отримання інгібіторів	14
1.3.1 Інгібітори рослинного походження.....	14
1.3.2 Інгібітори, отримані хімічним синтезом.....	17
1.3.3 інгібітори мікробного походження	20
1.3.4 Генно-модифіковані продуценти інгібіторів.....	24
1.4 Нові терапевтичні застосування існуючих інгібіторів ферментів	28
РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	31
2.1 Аналіз фармакологічних властивостей цільового лікарського засобу та галузей його використання.....	31
2.2 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу	34
2.2.1 Обґрунтування форми випуску ЛЗ.....	34
2.2.2 Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ.....	37
2.3 Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції .	40
2.4 Розрахунок потреби у субстанції для випуску лікарського засобу та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції	48
РОЗДІЛ 3 ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ.....	51
3.1 Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту.....	51
3.2 Обґрунтування вибору способу відділення біомаси	51
3.3 Обґрунтування вибору способу очищення фільтрату від високомолекулярних домішок.....	52
3.4 Обґрунтування вибору способу виділення акарбози	53
3.5 Вибір способу знебарвлення акарбози.....	54
3.6 Вибір способу концентрування акарбози	55

3.7 Вибір способу сушіння для отримання порошку акарбози	58
РОЗДІЛ 4	61
Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях.....	61
РОЗДІЛ 5 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	67
РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	72
РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ.....	76
РОЗДІЛ 8 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	85
8.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік	85
8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря)	85
8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	89
8.4. Обґрунтування вибору підготовки води	90
8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	92
РОЗДІЛ 9. МАТБАЛАНС НА СЕРІЮ ЛЗ	97
РОЗДІЛ 10 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	100
РОЗДІЛ 11 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛЗ	103
РОЗДІЛ 12 ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД.....	106
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	117

ВСТУП

Фермент - білкова молекула, яка має спеціалізовану активність і зв'язується з молекулою субстрату для завершення біокаталітичної реакції. Інгібітори ферментів можна охарактеризувати як молекули, що зв'язуються з ферментами і знижують їх активність. Вони зв'язуються з активним центром ферментів і знижують їх сумісність із субстратами, що призводить до пригнічення утворення фермент-субстратних комплексів.[1]

Інгібітори ферментів відіграють важливу роль у багатьох галузях, особливо фармацевтичній. Фундаментальне розуміння активності інгібіторів допомагає у процесі розробки нових терапевтичних препаратів. Завдяки специфічності та силі дії ферментів, які вони здатні інгібувати, більшість лікарських засобів вибірково впливають на широкий спектр хронічних та небезпечних для життя захворювань і розладів. Інгібітори оцінюються на основі двох факторів – ефективності і специфічності. Препарат повинен мати високу ефективність і специфічність, щоб переконатися, що він має незначні побічні ефекти і токсичність. [2]

Щороку близько 140 тисячі українців отримують онкологічний діагноз. Рак - це складна група захворювань, що характеризується неконтрольованим ростом і поширенням клітин, що мутували. Дана група захворювань є причиною значних показників захворюваності та смертності. Поширеність раку така, що кожна четверта людина стикається з ризиком його розвитку протягом життя. Отже, запобігання розвитку злоякісних утворень, їх вчасне діагностування, можливість швидко розробити правильну та ефективну схему лікування залишається напрямком, який потребує особливої уваги та розгляду.

Нещодавні дослідження вчених показують, що акарбоза може відігравати потенційну роль у лікуванні раку нирок. Дослідження продемонстрували, що акарбоза пригнічує ріст клітин раку нирок як *in vivo*, так і *in vitro*. Механізм дії акарбози пов'язують з участю у затримці росту пухлини та посилюванні

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ		
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата			
Розроб.		Палько Л.О.			Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.				7	128
Н. контр					ВСТУП		
Консульт							
Зав. каф.		Стабніков В.П.			Кафедра БТМ		

протипухлинного імунітету, впливаючи на активність Т-клітин CD8, модуляції сигналізації інсуліну та ІФР-1. Поєднання акарбози з рапаміцином значно зменшує кількість легневих метастазів раку нирки. Ці результати відкривають нові можливості для використання акарбози як допоміжного терапевтичного засобу в лікуванні раку нирок та дають надію на покращення результатів лікування та рівня виживання пацієнтів.[3]

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальна характеристика та властивості інгібіторів ферментів

Інгібітори ферментів - це сполуки, які змінюють каталітичні властивості ферментів і сповільнюють або навіть зупиняють швидкість реакції, блокуючи або спотворюючи активний центр. Виділяють три типи інгібування ферментів: конкурентне, неконкурентне та алостеричне. Інгібітори ферментів можна класифікувати як оборотні або необоротні. Нижче розглянуто більш детальніше механізми процесу інгібування.

1.1.1 Механізми інгібування

При конкурентному інгібуванні інгібітор, який подібний до субстрату, зв'язується з ферментом, зазвичай в активному центрі, запобігаючи зв'язуванню субстрату і таким чином зменшуючи частку молекул ферменту, які зв'язані з субстратом. За цих умов субстрат здатний переважати інгібітор, і інгібування може бути ослаблене при високих концентраціях субстрату.

Під час конкурентного інгібування інгібітор конкурує з субстратом за зв'язування з ферментом.

Яскравим прикладом слугує реакція, що каталізується сукцинатдегідрогеназою, де малонат діє як конкурентний інгібітор, який зв'язується з активним центром сукцинатдегідрогенази і перешкоджає зв'язуванню сукцинату. При цьому хімічної реакції не відбувається. Тоді як під час класичного перебігу сукцинатдегідрогеназної реакції відщеплюються два атоми водню від сукцинату та приєднуються до коферменту FAD. У результаті утворюється фумарат, який звільняється з активного центру сукцинатдегідрогенази.[4]

Конкурентні інгібітори в медицині використовуються для лікування різних захворювань. Ось декілька прикладів:

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		Палько Л.О.			Розділ 1. Огляд літератури	Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.					9	128
Н. контр						Кафедра БТМ		
Консульт								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

- Галантамін - інгібітор ацетилхолінестерази, який забезпечує розклад ацетилхоліну в нервовій системі. Галантамін використовують для лікування психозу, що супроводжується деменцією, включаючи хворобу Альцгеймера.[5]
- Атенолол - конкурентний інгібітор адренорецептора β . Він використовується для лікування гіпертонії.[6]
- Азитроміцин - конкурентний інгібітор 50S-субодиниці рибосом, за рахунок чого інгібується синтез бактеріального білка і пригнічується транслокація пептидів. Використовується для лікування бактеріальних інфекцій, володіє антималярійним ефектом.[7]

За неконкурентним типом інгібітори не є структурно подібні до субстрату. Вони реагують з іншими, відмінними від активних центрів, ділянками молекули ферменту та можуть зв'язуватися як і з фермент-субстратним комплексом, так і з вільним ферментом. Тому неконкурентне інгібування не може бути усунене збільшенням концентрації субстрату. Приєднання інгібітора до ферменту зменшує його активність, але не впливає на спорідненість ферменту із субстратом. Неконкурентними інгібіторами, як правило, є іони важких металів (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+}) та їх похідні, які можуть реагувати з основними сульфгідрильними групами, утворюючи меркаптиди.

Одним із прикладів неконкурентних інгібіторів, що використовуються як ліки, є інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ). Ці інгібітори блокують перетворення ангіотензину I в ангіотензин II, який є потужним судинозвужувальним засобом. Це призводить до зниження артеріального тиску і використовується для лікування гіпертонії.[8]

Іншим прикладом неконкурентних інгібіторів, що використовуються як ліки, є нуклеозидні інгібітори зворотної транскриптази (НІЗТ). Ці інгібітори блокують фермент зворотної транскриптази вірусу ВІЛ або гепатиту В, вибірково пригнічуючи реплікацію вірусної ДНК.[9]

Ацетилсаліцилова кислота (аспірин) належить до нестероїдних протизапальних препаратів, які здатні необоротно інгібувати циклооксигеназу 1

(ЦОГ-1), а також призначається для інгібування агрегації тромбоцитів. Основним механізмом дії ацетилсаліцилової кислоти є інактивація ферменту циклооксигенази (ЦОГ), в результаті чого порушується синтез простагландинів, простациклінів і тромбоксану.[10]

Багато випадків неконкурентного інгібування (а також деякі унікальні випадки конкурентного інгібування) є формами алостеричної регуляції.

Алостеричне інгібування використовується для контролю швидкості метаболічних реакцій шляхом дезактивації ферменту та уповільнення його активності. Цей тип інгібування використовується для регулювання багатьох метаболічних процесів, необхідних для підтримання функціонування та збалансованості людського організму.[11]

Приклад алостеричного інгібування:

АТФ (аденозинтрифосфат) є прикладом алостеричного інгібітора. Фермент, який бере участь у гліколізі - фосфофруктокіназа. Він перетворює АДФ (аденіндифосфат) в АТФ. Коли концентрація АТФ в системі занадто велика, то АТФ функціонує як алостеричний інгібітор. АТФ з'єднується з фосфофруктокіназою і сповільнює перетворення АДФ. Крім того, фосфофруктокіназа алостерично інгібується цитратом, проміжним продуктом циклу Кребса. Це означає, що гліколіз буде обмежений, коли є висока генерація АТФ з циклу Кребса.[12]

1.1.2 Характеристика типів інгібіторів

Оборотні інгібітори зв'язуються з ферментами за допомогою нековалентних взаємодій, таких як водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії та іонні зв'язки. На відміну від субстратів і незворотних інгібіторів, оборотні інгібітори, як правило, не вступають у хімічні реакції при зв'язуванні з ферментом. Їх можна легко видалити шляхом розведення або діалізу.

Часто оборотні інгібітори за своєю структурою дуже схожі на субстрати їх цілей. Прикладом таких імітаторів субстратів є інгібітори протеази - успішний клас антиретровірусних препаратів, що застосовуються для лікування ВІЛ-

інфекції. Ці інгібітори схожий на білок, який є субстратом протеази ВІЛ та конкурують з ним в активній ділянці ферменту.

Однак не всі інгібітори подібні до структури субстратів. Наприклад, структура інгібітора протеази типранавіру не має очевидної структурної схожості з білковим субстратом. Через відмінності від інших інгібіторів протеази, типранавір має відносно інший профіль резистентності до протеази ВІЛ. Непептидні інгібітори можуть бути більш стабільними, ніж інгібітори, що містять пептидні зв'язки, оскільки вони не будуть субстратами для пептидаз і менш схильні до деградації.[13]

Незворотне інгібування ферментів - процес, що відбувається в результаті руйнування або незворотньої модифікації однієї чи декількох функціональних груп ферменту. Незворотні інгібітори часто мають властивості клітинних отрут.

Незворотні інгібітори часто містять реакційноздатні функціональні групи, такі як азотисті іприти, альдегіди, галогеноалкани або алкени. Ці групи реагують з бічними ланцюгами амінокислот, утворюючи ковалентні комплекси. Модифіковані залишки - це залишки з бічними ланцюгами, що містять нуклеофіли, такі як гідроксильні або сульфгідрильні групи (амінокислоти серин, цистеїн, треонін або тирозин).

Незворотне інгібування відрізняється від незворотної інактивації ферменту. Незворотні інгібітори, як правило, специфічні для одного класу ферментів і не інактивують всі білки; вони діють не шляхом руйнування структури білка, а шляхом специфічної зміни активної ділянки своєї мішені. Наприклад, екстремальні значення рН або температури зазвичай спричиняють денатурацію всієї структури білка, тобто це неспецифічний ефект. [14]

Не всі незворотні інгібітори утворюють ковалентний комплекс зі своїми ферментами-мішенями. Деякі оборотні інгібітори настільки міцно зв'язуються з ферментом-мішенню, що стають практично незворотними. Ці інгібітори, що міцно зв'язуються, можуть демонструвати кінетику, подібну до ковалентних незворотних інгібіторів. У цих випадках деякі з цих інгібіторів швидко зв'язуються з ферментом у низькоафінний EI-комплекс, який потім повільніше

перебудовується в дуже міцно зв'язаний EI*-комплекс. Така кінетична поведінка називається повільним зв'язуванням. Ця повільна перебудова після зв'язування часто включає конформаційні зміни. Прикладами інгібіторів, що повільно зв'язуються, є такі препарати як алопуринол,[15] та активована форма ацикловіру. [16]

Вартим уваги прикладом необоротного інгібування шляхом ковалентного зв'язування інгібітора з активним центром є дія фосфорорганічних сполук (ФОС) на активність ферменту ацетилхолінестерази. Препарати ФОС вважаються високотоксичними отрутами відносно комах та теплокровних тварин, механізм дії яких полягає у взаємодії з ОН-групою серину в активному центрі ферменту.[17]

Диізопропілфторфосфат належить до специфічних незворотних інгібіторів, оскільки він утворює ковалентний зв'язок із гідроксильною групою серину, який знаходиться в активному центрі та відіграє ключову роль у процесі каталізу.[18]

1.2 Відкриття та конструювання інгібіторів

Нові лікарські препарати є результатом тривалого процесу розробки, який часто починається з відкриття нової речовини з властивостями інгібування ферментів. У минулому єдиним способом знайти ці нові інгібітори був метод проб і помилок: скринінг величезних бібліотек сполук проти цільового ферменту в надії, що з'явиться кілька корисних зачіпок. Цей метод все ще залишається успішним і навіть був доповнений підходами комбінаторної хімії, які швидко генерують велику кількість нових сполук, а також високопродуктивною технологією скринінгу, що дозволяє швидко перевіряти ці об'ємні хімічні бібліотеки на наявність корисних інгібіторів.

Нещодавно з'явився альтернативний підхід: раціональний дизайн ліків, коли тривимірна структура активної ділянки ферменту використовується для прогнозування того, які молекули можуть бути інгібіторами. Отриманий результат потім перевіряється, і одна з цих тестових сполук може виявитися новим інгібітором. Потім цей інгібітор використовують для отримання

структури ферменту в комплексі інгібітор/фермент, щоб показати, як молекула зв'язується з активним центром. Це дозволяє вносити зміни в структуру сполуки, щоб спробувати оптимізувати процес зв'язування. Цей цикл тестування повторюється доти, доки не буде створено достатньо потужний інгібітор. Зазвичай цей процес спрямований на отримання інгібітора з константою дисоціації $<10^{-9}$ M.[19]

1.3 Технології отримання інгібіторів

1.3.1 Інгібітори рослинного походження

Інгібітори ферментів з рослинних екстрактів століттями використовувалися в традиційній медицині як ліки від різних захворювань. Рослини здатні захищатись за допомогою широкого спектру засобів хімічного захисту. До них відносяться і інгібіторні сполуки. Наприклад, до ряду захисних білків рослин відносять інгібітори протеїназ. Інгібітори протеїназ широко представлені в ряді рослин. Відомо, що вони індукуються внаслідок ушкоджень, наприклад, комахами. В останні роки зростаючі дослідження інгібіторів рослинних протеїназ підтвердили їх важливу роль у сфері захисту рослин. Іншим прикладом є інгібітори амілази, які містяться в зернових культурах, таких як пшениця, кукурудза, рис, ячмінь, квасоля та інші бобові. Інгібіторні сполуки найчастіше зустрічаються в насінні і локалізуються в алейронових зернах, ядрах, хлоропластах і мітохондріях клітин. У деяких рослин їх можна знайти в листі, стеблах, квітках, бульбах тощо.[20]

Багато інгібіторів рослинного походження мають потужну фармакологічну активність і уже використовуються у терапії або ж досліджуються як потенційні джерела нових лікарських засобів. Наприклад, фермент холінестераза відповідає за розщеплення ацетилхоліну в організмі, що є необхідним для нормального функціонування нервової системи. Інгібітори холінестерази застосовуються для лікування хвороби Альцгеймера, яка характеризується зниженим рівнем ацетилхоліну в мозку. Одним з таких інгібіторів є галантамін, який міститься в рослині *Galanthus woronowii*. Дослідження показали, що галантамін може

покращувати когнітивні функції у пацієнтів з хворобою Альцгеймера шляхом підвищення рівня ацетилхоліну в мозку.[21]

Інший приклад - фермент 5-ліпоксигеназа, який бере участь у біосинтезі лейкотрієнів, медіаторів запалення. Інгібітори цього ферменту досліджуються як потенційні терапевтичні засоби для лікування запальних захворювань, таких як астма та артрит. Одним з таких інгібіторів є кверцетин, який міститься в різних рослинах, включаючи яблука, цибулю та чай. Дослідження показали, що кверцетин може пригнічувати активність 5-ліпоксигенази та зменшувати запалення на тваринних моделях.[22]

Дослідження традиційних екстрактів індійських та австралійських лікарських рослин з метою визначення їх терапевтичного потенціалу для лікування цукрового діабету та гіперглікемії за рахунок затримки активності ферментів α -амілази та α -глюкозидази, які відповідають за перетравлення вуглеводів та всмоктування глюкози показало оптимістичні результати. З дванадцяти досліджуваних рослинних екстрактів найвищу інгібуючу активність щодо ферментів α -амілази та α -глюкозидази показали *Santalum spicatum* та *Pterocarpus marsupium* зі значеннями IC_{50} 5,43 мкг/мл і 0,9 мкг/мл відповідно та 5,16 мкг/мл і 1,06 мкг/мл відповідно. Однак екстракти *Acacia ligulate* ($IC_{50} = 1,01$ мкг/мл), *Mucuna pruriens* (0,8 мкг/мл) та *Boerhaavia diffusa* (1,72 мкг/мл) проявили значну активність відносно ферменту α -глюкозидази. [23]

Крім того, інгібітори ферментів з рослинних екстрактів також досліджуються як потенційні препарати для лікування раку. Новий внесок у пошук інгібіторів був нещодавно зроблений групою вчених з Флоридського університету, які перевірили понад 900 широко використовуваних екстрактів лікарських рослин і виявили екстракт китайського горіха *Rhus chinensis*, який наділений потужною інгібуючою активністю ЛДГ-А. Фракціонуванням сирого екстракту за біологічною активністю, їм вдалося ідентифікувати активний компонент, відповідальний за інгібування активності ЛДГ-А: 1,2,3,4,6-пента-О-галоїлглюкоза. Значення IC_{50} , оцінене з використанням людського

рекомбінантного ЛДГ-А, виявилось 27 нМ. Ця сполука також виявилась активною у культивованих ракових клітинах: у клітинній лінії MDA-MB-231 раку молочної залози 1,2,3,4,6-пента-О-галоїлглюкоза спричиняла 50% зниження життєздатності клітин. [24]

Інгібітори протеолітичних ферментів відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу організму. Авторами було проведено дослідження, в ході якого розроблено технологію одержання високоочищеної субстанції інгібітора трипсину із сої щетинистої. За результатами визначення ферментної специфічності інгібітора рослинного походження було встановлено, що він є полівалентним інгібітором, який гальмує активність протеаз як плазми крові, так і шлунково-кишкового тракту, чим схожий на існуючий препарат контрикал. Активність соєвого інгібітора перевищує активність контрикалу вдвічі. [25]

Іншим вітчизняним дослідженням, що стосується інгібіторів ферментів рослинного походження є стаття, яка присвячена дослідженню взаємодії основних глікоалкалоїдів картоплі α -соланіну і α -чаконіну за інгібування ними іммобілізованої на поверхню рН-чутливих польових транзисторів бутирилхолінестерази. α -Соланін і α -чаконін складають 95% від загального вмісту глікоалкалоїдів у картоплі, інші види глікоалкалоїдів наявні лише у слідових концентраціях. Було встановлено, що взаємодія між α -соланіном і α -чаконіном має синергетичний ефект, тобто значно збільшує токсичність суміші порівняно з дією окремих компонентів. [26]

Хоча інгібітори з рослинних екстрактів є багатообіцяючими потенційними джерелами нових лікарських засобів, існують проблеми, пов'язані з їх розробкою в ефективні та безпечні ліки. Деякі з цих проблем:

1. Стандартизація: Рослинні екстракти можуть відрізнятися за своїм складом залежно від таких факторів, як умови вирощування, час збору та методи обробки. Така мінливість ускладнює забезпечення стабільності якості та ефективності екстракту, що є важливим для розробки лікарських засобів.

2. Біодоступність: Багато інгібіторів з рослинних екстрактів мають низьку біодоступність, що означає, що вони можуть не всмоктуватися і не розподілятися в організмі. Це може обмежити їхню ефективність як лікарських засобів і може вимагати використання додаткових систем доставки або модифікацій для покращення їхньої біодоступності.

Загалом, розробка лікарських засобів на основі інгібіторів з рослинних екстрактів вимагає ретельного врахування цих та інших проблем, а також суворого наукового підходу для забезпечення їхньої безпеки та ефективності.[27]

1.3.2 Інгібітори, отримані хімічним синтезом

Інгібітори ферментів, отримані шляхом хімічного дизайну це молекули, спеціально розроблені для зв'язування з певним ферментом і пригнічення його активності. Ці інгібітори, як правило, є невеликими молекулами, які призначені для приєднання до активної ділянки ферменту. Хімічний дизайн інгібіторів ферментів включає процес ідентифікації активної ділянки ферменту та визначення ключових хімічних властивостей, необхідних для зв'язування. Мета полягає в тому, щоб створити молекулу, яка буде міцно зв'язуватися з ферментом і блокувати його активність, мінімізуючи при цьому будь-які нецільові ефекти. Нижче описані приклади даних інгібіторів та їх застосування.

Інгібітори алькогольдегідрогенази є ефективними антидотами при гострому отруєнні алкоголем, оскільки вони обмежують утворення високотоксичних альдегідів і прискорюють виведення небезпечних спиртів у незміненому вигляді. Авторами було досліджено вплив ряду амідів заміщених бензойних кислот на активність цитоплазматичної алькогольдегідрогенази з печінки щурів: 2- та 4-хлорбензаміди, 2,4-дихлорбензамід, 2,4-дихлор-5-метилбензамід. Серед досліджених сполук найбільш ефективним виявився 2,4-дихлор-5-метилбензамід (інгібування на 60%). Він проявляє змішаний характер інгібування при насичуючих концентраціях NAD⁺. [28]

Авторами [29] з метою пошуку нових інгібіторів лужних фосфатаз було проведено модифікацію калікс[4]арену залишками фосфонових кислот. Шляхом приєднання метиленбісфосфонової кислоти до верхнього ободу калікс[4]арену було утворено сполуку, яка проявляла значно більший інгібуючий вплив на активність лужної фосфатази, ніж калікс[4]арен. Окрім цього, калікс[4]аренметиленбісфосфорова кислота ефективно інгібує Na^+, K^+ -АТР-азу плазматичної мембрани, не впливаючи при цьому на базальну Mg^{2+} -АТР-азу.

Інгібування лактатдегідрогенази (ЛДГ) наразі розглядається багатьма вченими як варта уваги тема в розробці інноваційних протиракових стратегій.

Вчені з Genentech відкрили кілька хімічних класів інгібіторів ЛДГ, серед яких було виявлено похідне 2-аміно-5-арил-піразину, яке чинить помірну інгібувальну дію на ЛДГ, але, у ході подальших досліджень, не виявило відповідних властивостей *in vivo*. [30] Нещодавно вони відкрили низку 3,6-заміщених дигідропіронів, що виявляють інгібуючу активність щодо ЛДГ-А. Подальші дослідження, що стосувалися структури та активності, призвели до відкриття 6,6-спіроаналогів з покращеною інгібуючою силою ($\text{IC}_{50} < 350 \text{ нМ}$). Окрім цього, аналіз рентгеноструктурного дослідження комплексу ЛДГ-А з однією з ідентифікованих інгібуючих молекул виявив додаткові можливості підвищення активності цих сполук. [31]

Завдяки молекулярно-динамічному методу група вчених ідентифікувала сполуки зі спільним N-ацилгідразоновим каркасом, що спричиняють інгібування ферменту на мікромольному рівні. Найактивнішою сполукою цього ряду виявилось похідне N-ацилгідразону ($\text{IC}_{50} = 37 \text{ мкМ}$), яке було досліджене на клітинах лімфоми Раджі, культивованих *in vitro*. Ця сполука також показала потенціал для підвищення терапевтичної ефективності загальноживаних хіміотерапевтичних препаратів та при тестуванні на здорових лімфоцитах, не впливала на життєздатність клітин. [32]

А з допомогою методу віртуального скринінгу, застосованого до бази даних сполук ChemBridge, вченими було ідентифіковане похідне пурин-діону, який

взаємодіє з ЛДГ-А шляхом утворення водневих зв'язків із залишками Arg99, Asp52 і Tyr83. Це провокує потужну інгібуючу активність на очищений білок ($IC_{50} = 250$ нМ). Молекула також показала хорошу ефективність в культивованих клітинах (лінія раку молочної залози MCF-7), як і на життєздатність клітин ($IC_{50} = 1,54$ мкМ), так і на продукцію лактату ($IC_{50} \approx 2$ мкМ). [33]

Останніми роками багато уваги присвячується можливості використання інгібіторів ферментів у складі нових препаратів для лікування ВІЛ-інфекції.

У ході одного з досліджень було спроектовано 132 тiazолідинони на основі бензотiazолу. На основі результатів прогнозування біологічних спектрів речовин та молекулярного докінгу було синтезовано тридцять дві з відібраних сполук та проведено їх оцінку. Двадцять чотири з синтезованих сполук показали інгібуючу дію, що дорівнювала або була нижчою за 4 мкМ, тоді як сім сполук 4 мкМ, а сім з них виявилися більш потужними, ніж невірапін. [34]

Важливе значення надавалося розробці інгібітору *Mycobacterium tuberculosis*. Так, в якості інгібіторів було обрано похідні 1-(1-арилетилпіперидин-4-іл)тимінів та оцінено їх здатність інгібувати каталітичну активність та ріст вірулентного штаму мікобактерій туберкульозу (H37Rv) за методом Ван Каленберга. [35]

Приділено увагу ідентифікації нових сполук, що мають протигрибкову активність проти *Aspergillus fumigatus*, одного з найбільш поширених грибкових патогенів. Мішенню слугував фермент ланостерол 14- α -деметилаза (CYP51A). Шляхом поєднання методів *in silico* та *in vitro* було створено лігандну модель фармакофору, яка слугувала для 3D-пошуку хімічної бази даних ZINC. В результаті всі протестовані сполуки різної будови проявили протигрибкову активність. [36]

Полівалентні наноконструкції, які широко використовуються для покращення розпізнавання біомолекулярних мішеней, нещодавно були

використані для інгібування ферментів, демонструючи такі привабливі властивості як покращення інгібуючої здатності та селективності.

Даний метод було досліджено на глікозидазах - ферментах, що каталізують гідроліз глікозидного зв'язку в ди-, оліго- та полісахаридах. Науковцями було розроблено дво- та тривалентні іміноцукри з використанням гнучких олігоетиленгліколевих каркасів. Автори виявили, що тривалентний іміноцукор демонструє 7,6-кратне посилення афінності (відносна ефективність по відношенню до кількості інгібіторних фрагментів $gr/n = 2,5$) до α -маннази бобів квасолі Джека [37]. Дещо згодом групою авторів було розроблено нові іміноцукрові кластери на основі β -циклодекстринових каркасів. За результатами було виявлено, що шестивалентний кластер 3 виявив полівалентну дію на β -глюкоцереброзидазу зі 200-кратним посиленням активності порівняно з моновалентною контрольною сполукою. [38]

1.3.3 інгібітори мікробного походження

Інгібування ферментів є поширеною схемою, яку використовують мікроорганізми для виживання та конкуренції в навколишньому середовищі. З мікроорганізмів також виділено ряд інгібіторів ферментів для різних сфер застосування.

Групою італійських вчених були досліджені морські мікроорганізми як джерело ензимних інгібіторів. Інгібітори ферментів морського походження вважаються дієвою альтернативою у фармацевтиці для заміни синтетичних препаратів. З бактерій та актиноміцетів морського середовища було виділено декілька десятків інгібіторів ферментів. Одним з перших таких мікроорганізмів стали *Alteromonas sp.*, з яких були виділені інгібітори серинової та цистеїнової протеаз. Прикладом інгібіторів серинових протеаз є маріностатини С-1 та С-2, які застосовуються як лікарські засоби в патогенезі панкреатиту завдяки своїм властивостям інгібувати α -хімотрипсин ($IC_{50} = 1,0-3,2$ мкМ).

Іншими показовими прикладами є:

- 2,3-індолінедіон, інгібітор моноамінооксидази з морських *Alteromonas sp.*, які підвищують рівень ацетилхоліну та дофаміну в процесах нейротрансмісії ($IC_{50} = 9,2$ мкМ).
- В-90063, інгібітор ендотелінперетворюючого ферменту (ЕПФ) з *Blastobacter sp.* SANK 71894, ($IC_{50} = 1,0-3,2$ мкМ), здатний викликати звуження кровоносних судин і тому застосовується при гіпертонії, серцево-судинних та ниркових захворюваннях.
- піростатини А та В зі штаму *Streptomyces SA-3501* з інгібуючою активністю проти N-ацетил-b-d-глюкозамінідази ($IC_{50} = 1,0$ мкМ), що можуть застосовуватися як лікарські засоби при діабеті, лейкемії та раку. [39]

Вище зазначалося, що інгібітори амілази є корисними для контролю та лікування вуглеводнезалежних захворювань, таких як діабет, ожиріння та гіперліпемія. Акарбоза, інгібітор α -глюкозидази та α -амілази є псевдотетрасахаридом і комерційно виробляється з використанням розроблених штамів *Actinoplanes* і цей інгібітор пізніше було отримано з *Streptomyces glaucescens*. Аміноолігосахарид, названий SF638-1, був виділений з культурального фільтрату штаму *Streptomyces PW638* і інгібував α -амілазу підшлункової залози людини з тією ефективністю, що й акарбоза. Крім того, ще чотири аміноолігосахариди, а саме: акарвіостатин I03, II03, III03 та IV03 були виділені зі *Streptomyces coelicoflavus ZG0656*. Було показано, що вони інгібують панкреатичну альфа-амілазу підшлункової залози свиней, а акарвіостатин III03 виявився більш потужнішим, ніж акарбоза. [40-41]

Інгібітори β -лактамаз є потужними засобами для пригнічення бактерій з мультирезистентністю, адже цей фермент бере активну участь у формуванні антибіотикорезистентності.

Групою вчених було виявлено інгібіторний вплив на β -лактамазу калафунгіном, отриманого з *Streptomyces sp.* SBRK1. Штам актинобактерій SBRK-1 було виділено з морської губки *Spirostella sp.*, зібраної з узбережжя Каньякумарі, Індія, культивування проводилося на ізоляційному середовищі для актинобактерій. Ген 16S рРНК був секвенований та проаналізований за допомогою бази даних штамів типу EzTaxon-e. Ряд досліджень довели β -лактамазну інгібуючу активність калафунгіну. Поряд з антибактеріальною активністю, аналіз клітинної поверхні клітин *Staphylococcus aureus*, оброблених калафунгіном, виявив руйнування клітинної мембрани у відповідь на інгібування β -лактамази. Молекулярні докінгові дослідження підтвердили властивість карафунгіну зв'язуватися з β -лактамазою двома водневими зв'язками.[42]

Клавуланова кислота широко використовується як інгібітор β -лактамази. Біосинтетичний шлях отримання клавуланової кислоти ще не повністю досліджений, хоча багато проміжних продуктів і ферментів вже виділено. Тим не менш, аргінін і глутаральдегід-3-фосфат були ідентифіковані як два важливі попередники клавуланової кислоти у *Streptomyces clavuligerus*.

Нещодавно було висловлено припущення, що продукція клавуланової кислоти *Streptomyces clavuligerus* може бути наслідком гомеостатичної реакції, спрямованої на компенсацію дефіциту АТФ при фосфатному виснаженні. Продукування клавуланової кислоти у *S. clavuligerus* покращується шляхом генетичної зміни генів, пов'язаних або залучених до клавамового шляху. Цей шлях має вирішальне значення для створення штамів-надлишкових продуцентів. Та, незважаючи на те, що було проведено багато успішних досліджень з використанням методів синтетичної біології, альтернативних методів біообробки, відкриття генів, метаболічного моделювання та подальшої обробки, для цього питання необхідно використовувати нові підходи. [43]

У дослідженні, датованому 2018 роком, описано виділення та характеристику нового інгібітора β -лактамаз бактерії *Streptomyces sp.* SBT345, отриманої зі зразку ґрунту. Інгібітор, названий SBT345, виявився циклічним

пептидом за своєю структурою, ефективним проти кількох клінічно значущих β -лактамаз, включаючи β -лактамази зі стійкістю до пеніцилінів, цефалоспоринів другого і третього покоління та цефаміцинів.[44]

У 2014 році з донних зразків Нікобарського моря вченими був виділений ізолят актинобактерії *Streptomyces sp.* LK3, яка продукує речовину з інгібувальними властивостями до протеази. Для виділення актинобактерій були обрані 6 різних типів поживних середовищ. Всі середовища були доповнені кінцевою концентрацією $50 \mu\text{g}/\text{мл}^{-1}$ дихромату калію та $15 \mu\text{g}/\text{мл}^{-1}$ налідиксової кислоти, щоб полегшити виділення повільно зростаючих актинобактерій. Дихромат калію пригнічує ріст грибів, тоді як налідиксова кислота пригнічує більшість грамнегативних бактерій. Отриманий інгібітор, продукований *Streptomyces sp* LK3, був досліджений як потенційна активна протималярійна речовина і показав значну антиплазмодіальну активність (IC_{50} : 25,78 мкг/мл). [45]

Дослідниками був розроблений культуральний метод для визначення продукції секретованих інгібіторів протеази. В даному аналізі використовувались стандартні планшети для підтримки росту мікроорганізмів, після чого на них наносять протеазу і виявляють залишки протеїну шляхом осадження трихлороцтової кислоти або фарбуванням бромкреоловим зеленим чи Понсо S. Присутність інгібітора протеази можна спостерігати у вигляді захищеної зони білка навколо культури. Вчені змогли довести, що тест є специфічним для спорідненого інгібітора протеази та для бактерій, що секретують інгібітори протеази, використовуючи інгібітори протеази α -2-макроглобулін, апротинін, лейпептин та бестатин, а також первинну та вторинну форми *Photorhabdus luminescens* у поєднанні з протеазним трипсином. Також, при використанні казеїновмісних планшетів розмір дифузійної зони обернено корелював з молекулярною масою інгібітора, що дозволяє відносно оцінити молекулярну масу інгібітора протеази. Цей аналіз корисний для виявлення наявності мікробних інгібіторів протеази і може виявити їх утворення

мікроорганізмами, які раніше не були визнані як продуценти інгібіторів протеази. [46]

Науковцями було досліджено штами бактерій *Bacillus subtilis* R14 та *B. subtilis* 916, які продукують ліпопептид бациломіцин L, що відомий сильною антифунгальною активністю проти різноманітних агрономічно важливих нитчастих грибів. Одне з досліджень стосувалося вивчення інгібувальної активності проти ряду полірезистентних бактерій. *B. subtilis* R14 був ізольований з поверхні листків капусти, надалі з ліофілізованої культури робили субкультури на живильному агарі. Продуковані сполуки осаджували з культуральної рідини доводячи рН до 2,0 за допомогою 6N HCl з витримкою протягом ночі при 4°C, далі екстрагували хлороформ-метанолом та проводили фільтрацію. Виділені з культури сполуки тестували на групі мультирезистентних бактерій, виділених з клінічних зразків: *Pseudomonas aeruginosa* (CI1, CI3, CI5, CI6, CI7, CI10, CI15); *Escherichia coli* CI18; *Staphylococcus aureus* (CI15, CI16, CI155, CI247, CI311, CI404) та *Enterococcus faecalis* (CI55671, CI55918, CI144, CI068, CI56671, CI56354, CI55995, CI295, CI222, CI55195, CI56288). У результаті досліджень, було встановлено, що показали вищу активність проти грамполозитивних коків, ніж проти грамнегативних паличок. Для *Enterococcus faecalis* середнє значення становило 14,6 мм. Ці результати є важливими, оскільки ці мікроорганізми мають природну резистентність до азтреонаму, ко-тримоксазолу, цефалоспоринів, хлорамфеніколу та кліндаміцину, а також низьку чутливість до аміноглікозидів та пеніциліну G. Найбільш чутливим виявився ізолят *S. aureus* 311 - 28,1 мм.[47-48]

1.3.4 Генно-модифіковані продуценти інгібіторів

Мікроорганізми, такі як бактерії, дріжджі та гриби, широко використовуються для промислового виробництва різних ферментів та метаболітів. Останніми роками досягнення генної інженерії дозволили модифікувати ці мікроорганізми для виробництва нових сполук, у тому числі

інгібіторів ферментів. Шляхом введення генів, що кодують білки або ферменти, які інгібують певні біологічні шляхи, можна створити генетично модифіковані мікроорганізми, здатні виробляти отримані інгібітори.

Генетична модифікація мікроорганізмів є перспективним підходом для створення нових інгібіторів ферментів та інших біологічних молекул. При подальшій оптимізації ці методи можуть забезпечити масштабоване та економічно ефективно виробництво інгібіторів ферментів, які можуть знайти застосування в якості дослідницьких інструментів, діагностики та терапії.

За останнє десятиліття для створення генетично модифікованих штамів мікроорганізмів було використано декілька підходів. Найбільш відомим методом є система CRISPR-Cas9, яка зробила революцію в галузі генної інженерії, дозволивши точно і ефективно редагувати мікробні геноми. Цей метод використовується для введення генів, що кодують певні сполуки, або для модифікації існуючих метаболічних шляхів з метою збільшення синтезу цих сполук. [49]

Дослідники успішно сконструювали штами кишкової палички для синтезу антимікробних пептидів, таких як кателіцидин, коліцини та мікроцини. Ці пептиди продемонстрували ефективність проти цілого ряду патогенних бактерій, включаючи штами з множинною лікарською стійкістю.

Вибір відповідного промотора, плазміди та штаму-хазяїна відіграє вирішальну роль у досягненні високих показників виходу та стабільності експресованих сполук. Серед різних білків, прийнятих як партнери по злиттю (партнери по злиттю приєднуються до N-кінця білків і містять лінкер, призначений для протеолітичного розщеплення), тіоредоксин був найбільш часто використовуваним переносником. На додаток до його інших властивостей невеликий розмір тіоредоксину робить його особливо придатним для проблеми синтезу пептидів. Окрім введення нових генів, дослідники також модифікували існуючі метаболічні шляхи в геномі *E. coli*, щоб збільшити виробництво цих

пептидів. Це було досягнуто завдяки використанню методів синтетичної біології, таких як збірка стандартизованих генетичних частин, відомих як BioBricks.

Після того, як штам було сконструйовано, дослідники перевірили його ефективність проти низки патогенних бактерій. Результати показали, що сконструйовані штами кишкової палички здатні виробляти антимікробні пептиди з потужною активністю проти різних бактеріальних патогенів.[50,51]

Іншим прикладом є штами *Streptomyces clavuligerus* OL13 та OR, отриманих методом мутагенезу, що продукують клавуланову кислоту. Було виявлено мутацію зсуву рамки зчитування в гені *cas1*, що кодує клавамінатсинтазу.

Інтегративний вектор *E. coli-Streptomyces* pSET152 з потужним конститутивним промотором *ermE** використовували для надекспресії гена *cas1* у *S. clavuligerus* OR. Для надекспресії ген *cas1* ампліфікували з геномної ДНК *S. clavuligerus* NRRL 3585 за допомогою методу ПЛР з використанням праймерів *cas1F* та *cas1R*. Отриманий ПЛР-продукт гена *cas1* клонували у вектор pGEM T-Easy та секвенували. Потім його лігували в похідну pSET152, що містить *ermE**, в результаті чого утворився pCAS1. Плазміда була введена *S. clavuligerus* OR шляхом кон'югації з *E. coli* ET12567/pUZ8002. Генотип було верифіковано за допомогою ПЛР та секвенування ДНК.

Для надмірної експресії регуляторних генів, ще один інтеграційний вектор, що містить ген інтегрази ФВТ1 було сконструйовано шляхом модифікації pSET152. Фрагмент ДНК, що містить ген інтегрази ФВТ1 ампліфікували з допомогою ПЛР з використанням праймерів *intF* та *intR*, а *aac(3)IV* та *oriT* ампліфікували з pSET152 з використанням праймерів *oriF* та *oriR* для отримання вектору. Для надмірної експресії ген *ssaR* ампліфікували з геномної ДНК *S. clavuligerus* NRRL 3585 з використанням праймерів *ssaRF1* та *ssaRR1*.

Фрагмент *ermE** та фрагмент для гена *ssaR* ампліфікували з pMF23 з використанням праймерів *PermEssaRF2* та *PermEssaRR2*. Ці фрагменти клонували за допомогою pJS01, *EcoRV* та *HindIII* для pCCAR-CLAR для

надмірної експресії генів *ssaR* та *claR*, в результаті всі плазмиди були секвеновані. Кожна з цих плазмід була введена в штам *S. clavuligerus* OR шляхом кон'югації з *E. coli* ET12567/pUZ8002, отримавши мутантні штами OR.

Надмірна експресія інтактного *cas1* у *S. clavuligerus* OL13 підвищувала титр клавуланової кислоти приблизно на 25%, продукуючи ~4,95 г/л, порівняно зі штамом OR. Надмірна експресія регуляторних генів, специфічних для даного шляху, *ssaR* та *claR*, у штаму OR підвищувала вихід клавуланової кислоти приблизно на 43% (~5,66 г/л). Однак, коекспресія інтактного *cas1* з *ssaR-claR* не призвела до подальшого покращення синтезу. У ферментері об'ємом 7 літрів, з 4,5 л культуральної рідини максимальний вихід клавуланової кислоти штамом OR, що експресує дикий тип *cas1* та *ssaR-claR*, досягнув приблизно 5,52 г/л та 6,01 г/л, відповідно. [52]

У дослідженні 2016 року автори описують метод синтезу алкалоїду носкапіну в дріжджах *Saccharomyces cerevisiae* за допомогою методів генної інженерії. Носкапін - це природний алкалоїд, який має протиракові властивості, але його доступність обмежена через складність вилучення з природних джерел.

Автори спочатку ідентифікували гени, відповідальні за біосинтез носкапіну в опійному маку, а потім перенесли ці гени в клітини дріжджів. Вони також ввели додаткові гени для посилення виробництва молекул-попередників, необхідних для біосинтезу носкапіну.

Кластер генів носкапіну кодує 10 ферментів, які перетворюють (S)-скулерин в носкапін. Кластер кодує чотири монооксигенази (CYP719A21, CYP82Y1, CYP82X1 та CYP82X2), три метилтрансферази (PsMT1, PsMT2 та PsMT3), одну карбоксилестеразу (PsCXE1), одну дегідрогеназу (PsSDR1) та одну ацетилтрансферазу (PsAT1). Гени, пов'язані з синтезом носкапіну були введені в *S. cerevisiae* за допомогою плазмідних штучних хромосомних конструкцій чи шляхом хромосомної інтеграції. Сконструйовані штами дріжджів потім культивували на синтетичному середовищі (SDM) з додаванням 250 мМ рацемічного середовища, яке містило рівні кількості кожного енантіомеру. Після

72 годин культивування середовище аналізували на наявність метаболітів, використовуючи рідинну хроматографію та мас-спектрометрію. Дослідження також показали, що використання галактози як джерела вуглецю покращує продукування алкалоїдів.

За допомогою серії експериментів авторам вдалося оптимізувати виробництво носкапіну в дріжджах, досягнувши рівнів, які можна порівняти з тими, що містяться в опійному маку, досягаючи титру $1,64 \pm 0,38$ мМ носкапіну. Вони також продемонстрували, що вироблений дріжджами носкапін має подібні протиракові властивості як у природної сполуки.

Автори припускають, що їхня робота є значним кроком на шляху до виробництва носкапіну у великих масштабах за допомогою методів мікробної ферментації. [53]

Отже, генетично модифіковані штами мікроорганізмів мають великий потенціал як виробники інгібіторів ферментів, що може знайти застосування в медицині, сільському господарстві та промисловості. Використовуючи технологію рекомбінантної ДНК, вчені можуть змінювати метаболічні шляхи мікроорганізмів і створювати нові сполуки, які вони зазвичай не виробляють. Приклади виробництва клавуланової кислоти в *E. coli* та інгібітора альфа-амілази в *A. niger* демонструють доцільність та перспективність такого підходу.

1.4 Нові терапевтичні застосування існуючих інгібіторів ферментів

Нещодавні дослідження виявили потенційні нові сфери застосування деяких інгібіторів ферментів, що розширює їх терапевтичне застосування за межі їх традиційного використання.

Акарбоза, інгібітор ферменту альфа-глюкозидази, широко використовується в лікуванні цукрового діабету 2 типу завдяки своїй здатності пригнічувати ферменти альфа-глюкозидази в тонкому кишечнику, тим самим зменшуючи всмоктування вуглеводів і постпрандіальний рівень глюкози в крові.

Нещодавні дослідження [54,55] показали, що акарбоза може також мати потенційне застосування у лікуванні раку нирок.

Вважається, що протипухлинна дія акарбози опосередкована кількома механізмами. Один з таких механізмів включає пригнічення метаболізму глюкози в ракових клітинах, що призводить до зменшення вироблення енергії та росту клітин. Крім того, було показано, що акарбоза модулює сигнальні шляхи, які беруть участь у проліферації клітин, апоптозі та ангиогенезі. Дослідження *in vivo* на тваринних моделях продемонстрували, що акарбоза може ефективно зменшувати ріст пухлин і метастазування.

Багатообіцяючі доклінічні дані про протипухлинну дію акарбози вимагають подальшого вивчення в клінічних дослідженнях, які вже почали проводитися. Якщо буде доведена її ефективність, акарбоза може стати новим терапевтичним засобом для пацієнтів з раком нирки, особливо тих, хто має резистентність до сучасних методів лікування.

Статини, інгібітори 3-гідрокси-3-метилглутарил коензиму А (ГМГ-КоА) редуктази, препарати на основі яких призначаються як засоби для зниження рівня холестерину, нещодавно були досліджені на предмет їхнього потенційного нейропротекторного ефекту при хворобі Альцгеймера. Довірено, що статини можуть втручатися в автофагію, регулюючи активність або рівень експресії білків і генів, пов'язаних з автофагією, яка є потенційною мішенню для лікування хвороби Альцгеймера. Також статинам присвоється роль у зменшенні вироблення амілоїду-бета, модуляцію запальних реакцій та посилення мозкового кровотоку. Доклінічні дослідження показали багатообіцяючі результати, а поточні клінічні випробування оцінюють ефективність статинів у лікуванні хвороби Альцгеймера. [56,57]

Лізиноприл - це інгібітор ангіотензинперетворювального ферменту, який десятиліттями використовується для лікування гіпертонії. Останніми роками лізиноприл був досліджений у лікуванні серцевої недостатності. Механізми, що лежать в основі переваг лізиноприлу при серцевій недостатності, є

багатофакторними. Пригнічуючи ренін-ангіотензин-альдостеронову систему (РААС), лізиноприл зменшує вазоконстрикцію, затримку натрію та секрецію альдостерону, що призводить до покращення гемодинаміки та серцевої функції. Окрім встановленої ролі при серцевій недостатності, лізиноприл також досліджували на предмет його потенційних фармакологічних переваг при інших серцево-судинних захворюваннях, таких як гіпертонія, гострий інфаркт міокарда та діабетична нефропатія.

Клінічні дослідження продемонстрували ефективність лізиноприлу у зниженні захворюваності та смертності у пацієнтів із серцевою недостатністю, що відкриває шлях до його розширеного застосування.[58]

РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

2.1 Аналіз фармакологічних властивостей цільового лікарського засобу та галузей його використання

Рак - це група захворювань, які характеризуються неконтрольованим ростом і поширенням злоякісних клітин, що призводить до значної захворюваності та смертності в усьому світі. Рак є однією з основних причин смертності в усьому світі, наприклад, у 2020 році було зафіксовано 10 мільйонів смертей. Ситуація настільки складна, що кожна четверта людина має ризик захворіти на рак впродовж життя. Тому затребуваною темою залишається запобігання розвитку злоякісних утворень, їх вчасне виявлення та можливість швидко та ефективно розробити схему лікування для кожного пацієнта.[59]

За даними статистики на рак нирки припадає близько 2 % від всіх онкологічних захворювань. Захворюваність на рак нирки зростає в останні десятиліття, особливо в розвинених країнах, що, ймовірно, спричинено факторами ризику, пов'язаними з сучасним способом життя. Часто він залишається непоміченим до пізніх стадій, коли стає важче лікувати його ефективно. Протягом багатьох років люди, хворі на рак нирки, мали мало можливостей для лікування, окрім хірургічного втручання, а тривалість життя рідко перевищувала один рік. Але за останнє десятиліття стався стрімкий прогрес у терапії, яка націлена на гени і білки, в тому числі і ферменти, які контролюють ріст пухлин. Ці препарати ефективні проти раку і на пізніх стадіях, але часто не можуть попередити та запобігти рецидиву.[60]

Згідно даних Національного канцер-реєстру України звичайний показник захворюваності на рак нирки за 2021 рік складав 10.4 на 100 тис. населення, з

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Палько Л.О.</i>				РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО- ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Керівник</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						<i>31</i>	<i>129</i>
<i>Н. контр</i>					Кафедра БТМ№1			
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

яких звичайний показник смертності на 100 тис. населення становив 4.4 (6.3 серед чоловіків та 2.8 серед жінок). Щорічно в Україні реєструється приблизно 5 тисяч випадків захворювання на рак нирки. У дітей таку пухлину виявляють частіше, ніж у дорослих. Серед дорослої категорії пацієнтів пік захворювання припадає на вік 35-40 років і досягає максимуму у літньому віці (65-70 років).[61]

Існує кілька методів лікування раку нирки, в тому числі:

- Хірургічний. Хірургічне втручання це найпоширеніший метод лікування раку нирки. Метою операції є видалення пухлини та навколишніх тканин. Залежно від розміру і розташування пухлини, хірург може виконати часткову нефректомію (видалення тільки ураженої частини нирки) або видалення всієї нирки.
- Хіміотерапія. Хіміотерапія - це вид лікування, який використовує лікарські препарати для знищення ракових клітин.
- Імунотерапія. При цьому методі лікування штучно стимулюють імунну систему атакувати ракові клітини. Імунотерапія часто застосовується при запущеному раку нирки.
- Таргетна терапія. Таргетна терапія спрямована на специфічні білки або гени, які беруть участь у рості та поширенні ракових клітин. Її також часто застосовують при запущеному раку нирки.

Вибір методу лікування залежить від декількох факторів, включаючи стадію і локалізацію раку, загальний стан здоров'я пацієнта і потенційні побічні ефекти лікування. Для досягнення найкращого результату, як правило, використовують комбінацію вище наведених методів лікування.[62]

Акарбоза - це лікарський засіб, інгібітор ферменту альфа-глюкозидази, який широко використовується для лікування діабету 2 типу шляхом пригнічення інтестинальних альфа-глюкозидаз, які відповідальні за розщеплення ди-, оліго- і полісахаридів, тим самим знижуючи рівень цукру в крові, уповільнюючи засвоєння вуглеводів. Однак нещодавні дослідження показали, що акарбоза може відігравати нову роль у лікуванні раку нирки.

Дослідження, опубліковане в журналі *Cancers* у 2020 році, показало, що акарбоза пригнічує ріст клітин раку нирок *in vitro* та *in vivo*. Дослідники виявили, що акарбоза впливає на затримку росту ниркових пухлин. У мишей, які отримували акарбозу, пригнічення злоякісних клітин відбувалося в залежний від CD8 Т-клітин спосіб. Пухлини цих мишей демонстрували підвищену частоту CD8 Т-клітин, які зберігали продукцію IFN γ , TNF α , перфорину та гранзиму В. Поєднання акарбози з анти-PD-1 або інгібітором рапаміцину(мішень для ссавців) значно зменшувало метастази в легенях порівняно з контрольними мишами.[63]

Інше дослідження, датоване 2019 роком, показало, що акарбоза має імуномодулюючі властивості, які можуть сприяти підвищенню протипухлинного імунітету. Проточний цитометричний аналіз виявив підвищену частоту активованих (CD44+CD62L-) внутрішньопухлинних CD8 Т-клітин у мишей, які отримували акарбозу. Крім того, в ниркових пухлинах мишей, які отримували акарбозу, збільшилася кількість ранніх ефекторних (CD127-KLRG1-) CD8 Т-клітин, а також підвищилася частота PD-1+ CD8.[64]

Ці результати свідчать про те, що акарбоза може відігравати потенційну роль у лікуванні раку нирок як імуномодулюючий допоміжний засіб та заслуговує на увагу наукової спільноти.

Так на ринку України представлені наступні препарати акарбози (табл. 1.1).

Таблиця 2.1

Препарати акарбози, що представлені на ринку України

Назва	Дозування	Ціна	Форма випуску	Виробник
Акарфаж	50 мг або 100 мг	1000-1100 грн	Таблетки	Merck Serono (Німеччина)
Глюкобай	50 мг або 100 мг	300-500 грн	Таблетки	Bayer Healthcare AG (Німеччина)

2.2 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу

2.2.1 Обґрунтування форми випуску ЛЗ

Лікарська форма – форма, в якій лікарський засіб представлений виробником (форма випуску), а також форма, в якій лікарський засіб призначений для застосування. Лікарському засобу надається зручна для застосування форма, при якій досягається необхідний лікувальний ефект.

Серед класифікацій ЛЗ найчастіше використовується класифікація за способом введення. Шляхи введення лікарських речовин поділяють на ентеральний, парентеральний та інгаляційний. Ентеральний шлях передбачає введення лікарської речовини через шлунково-кишковий тракт.

Парентеральний шлях (ін'єкційний) передбачає введення лікарської речовини внутрішньовенно, у шкіру, під шкіру, у м'язову тканину.

Лікарські форми за консинстенцією поділяються на тверді (таблетки, капсули, драже, гранули, порошки, збори та ін.); м'які (мазі, креми, гелі, супозиторії та ін.); рідкі (розчини, суспензії, емульсії, сиропи, настої, відвари, екстракти та ін.); газоподібні (аерозолі тощо).[65]

Препарати акарбози на ринку представлені виключно у таблетованій формі[66,67]. Розглянемо тверді лікарські форми детальніше.

Тверді лікарські форми – тип лікарських форм, які характеризуються сталістю об'єму. Вони найбільш поширені від лікарських форм, що забезпечує найкращі умови застосування і зберігання. До твердих лікарських форм належать: таблетки (*tabuletae*), драже (*dragee*), порошки (*pulveres*), капсули (*capsulae*), збори – (*species*). Серед них найбільш поширеними є таблетки та капсули.

Таблетки — дозована лікарська форма, яка отримується пресуванням лікарських або суміші лікарських і допоміжних речовин, що призначена, як правило, для внутрішнього, або сублінгвального застосування. Більшість таблеток приймаються внутрішньо, інші – попередньо розжовуються або кладуться під язик (сублінгвальні). Ця лікарська форма складає найбільший

відсоток серед готових лікарських форм, а їх виробництво в усьому світі постійно зростає.

Таблетки класифікують як:

- таблетки без оболонки, одношарові;
- таблетки, вкриті оболонкою; вкриті одним або кількома шарами суміші різних речовин (смоли, желатин, цукри, віск);
- таблетки шипучі (призначені для розчинення перед вживанням, містять карбонати та кислотні речовини, які реагують у присутності води з виділенням вуглекислого газу);
- таблетки розчинні;
- таблетки дисперговані;
- таблетки кишково-розчинні;
- таблетки з модифікованим вивільненням (містять спеціальні допоміжні речовини для регулювання місця вивільнення діючої речовини або її швидкості);
- таблетки для застосування у ротовій порожнині [68].

Драже— дозована лікарська форма, яку виробляють неоднократним нашаровуванням лікарських і допоміжних речовин на цукрові гранули. Завдяки цукровій оболонці не відчувається неприємного смаку і запаху, що полегшує прийом даних ліків пацієнтами.

Мікродраже — дозована лікарська форма, яку одержують шляхом нанесення суміші лікарських і склеювальних речовин на дрібні зернятка цукру в дражувальних котлах, подібно до того, як це робиться в дражувальних котлах із звичайним драже. Потім мікродраже покривають оболонками, що сповільнюють розчинення лікарської речовини.

Гранули —лікарська форма, що вигляд однорідних частинок округлої, або неправильної форми. За допомогою гранул можна поєднати речовини, що реагують між собою. Гранули є недозованою лікарською формою. Їх призначають всередину, перед вживанням часто розчиняють у воді.

Порошок —сипка лікарська форма, що складається з твердих окремих сухих частинок різного ступеня здрібненості, для внутрішнього і зовнішнього

застосування. Стерильний порошок призначений для парентерального введення після попереднього розчинення в стерильному розчиннику.[69]

Виробництво твердих лікарських форм с кожним роком вдосконалюється. Використання нових технологічних прийомів на сучасному обладнанні, застосування нових допоміжних речовин при створенні твердих лікарських форм значно розширило можливості їх розробки і відкрило шляхи для їх вдосконалення.

Таблетована форма лікарських препаратів має свої переваги та недоліки.

Переваги:

- Зручність в застосуванні, не потребують спеціальних навичок чи пристосувань.
- Довший термін зберігання: таблетки можна зберігати протягом тривалого часу без втрати ефективності та стабільності.
- Точне дозування: таблетки мають чітко визначену дозу лікарського засобу, що полегшує контроль над кількістю прийнятого препарату.
- Можливість пролонгації дії АФІ.
- Можливість маскування неприємних органолептичних властивостей.
- Можливість нанесення оболонки для захисту від нестійкості речовин.

Недоліки:

- Деякі таблетки можуть потребувати часу для розчинення та розпадання у шлунку перед тим, як почнеться ефект.
- Не підходить для деяких пацієнтів: певні пацієнти можуть мати труднощі з ковтанням таблеток, особливо це стосується дітей, літніх людей і т.п.
- Можливість подразнення слизових оболонок, особливо якщо приймати таблетки без достатньої кількості води.[70]

Ознайомившись з вищенаведеною інформацією про нині застосовувані тверді лікарські форми препаратів, обираємо таблетки як найбільш оптимальну

відповідно до властивостей речовини, точності дозування, високої стабільності таблетованої форми та зручності використання пацієнтами.

2.2.2 Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ

Первинна та вторинна упаковка для таблеток важливі з погляду зберігання, транспортування та безпеки препарату. Упаковка є засобом, що захищає продукцію при транспортуванні, впливу зовнішніх факторів на продукцію, допомагає підтримувати зовнішню форму продукції. Основними функціями упаковки є естетична, захисна, маркетингова, нормативно-законодавча, екологічна, інформаційна, експлуатаційна.

Головний вплив на готовий лікарський засіб має первинна упаковка, так як вона безпосередньо контактує з лікарським засобом. Первинна упаковка (наприклад, блістер або флакон) допомагає захистити таблетки від вологи, світла та інших шкідливих факторів навколишнього середовища. Зважаючи на це, первинна упаковка має велике значення для забезпечення якості лікарського засобу та заслуговує ретельного розгляду вибір певного виду та матеріалу пакування, які будуть відповідати вимогам.

Згідно з додатком 9 до настанови Всесвітньої організації охорони здоров'я з належної виробничої практики, упаковка для таблеток має відповідати таким вимогам:

- Таблетки слід зберігати в добре закритих контейнерах і захищати від світла, вологи, роздавлювання та механічних ударів. Будь-які особливі умови зберігання повинні бути вказані на етикетці.
- Таблетки повинні витримувати зовнішній вплив, включаючи пакування та транспортування, без втрати цілісності.
- Чутливі до вологи форми, такі як шипучі таблетки, слід зберігати у щільно закритих контейнерах або вологонепроникних упаковках, а також можуть потребувати використання окремих упаковок, що містять водопоглинаючі речовини, такі як силікагель. Для шипучих

таблеток на етикетці має бути зазначено "Не ковтати безпосередньо".[71]

Для пакування таблеток використовують такі традиційні пакувальні матеріали, як картон, папір, метал, скло. Загальноприйнятими на сьогодні також є плівкові упаковки з поліетилену, полістиролу, полівінілхлориду та змішані плівки на їх основі. Найбільш перспективним вважається контурно-чарункове пакування, яке отримують на основі комбінованих матеріалів методом термозварювання. Розрізняють безкоміркову (стрічкова) і коміркову (блістерна) упаковки.

Переваги та недоліки варіантів первинного пакування таблеток:

Блістери:

Переваги:

- Кожна доза окремо упакована, що дозволяє точно дозувати препарат та відстежувати використання.
- Захист від вологи та світла: Блістери забезпечують додатковий захист від вологи, світла та інших факторів навколишнього середовища.
- Зручність для пацієнта - легко визначити кількість препарату, який залишився, і контролювати дозування.

Недоліки:

- Складність відкриття окремих комірок для певних груп населення, наприклад, літніх людей або людей з обмеженою координацією рухів.
- Блістери найчастіше виготовляються з пластику, тому правильна утилізація та переробка блістерної упаковки важливі для мінімізації впливу на навколишнє середовище.

Флакони:

Переваги:

- Економічність: Флакон може містити більшу кількість таблеток, що робить його економічнішим.

Недоліки:

- Вплив навколишнього середовища: Можливість впливу вологи на препарат після відкриття флакона.
- Ризик контамінації: Якщо не дотримуватися правил гігієни, відкритий флакон може бути контамінований.

Отже, як первинну упаковку для таблеток акарбози обираємо блістерну упаковку з полівініліденхлориду та алюмінієвого покриття, так як такий тип пакування забезпечує захист від вологи, проходження кисню та світла всередину упаковки на рівні зі скляною тарою, але при цьому має меншу вартість. Разом з цим розробляється упаковка меншого розміру, уникаючи зайвих елементів і порожніх місць, що знижує матеріальні та виробничі витрати, а також зменшує вплив на навколишнє середовище при транспортуванні;

Вторинна упаковка — упаковка, в яку вміщена первинна упаковка та яка виконує додаткову захисну та інформаційну функції.

До вторинної тари належать картонні коробки, паперові оболонки, мішечки з крафт-паперу або плівкових полімерних матеріалів з інструкцією, листом-вкладишем, етикеткою і т.д. Вторинна упаковка повинна забезпечувати найбільш простий і зручний облік і контроль продукції, упакованої в індивідуальну упаковку. Часто вторинну упаковку називають споживчою, оскільки вона несе необхідну для споживача інформацію, що наноситься безпосередньо на зовнішню поверхню упаковки.[72,73]

Як вторинне пакування обираємо пачки з картону хром-ерзац. Картон хром-ерзац відомий своєю міцністю та довговічністю. Він забезпечує міцну структуру, яка може захистити ліки під час транспортування та зберігання. Також цей картон має гладку поверхню, яка чудово підходить для високоякісного друку. Використання картону вітчизняного виробництва для випуску упаковки забезпечує конкурентну перевагу за ціною використання.

2.3 Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції

Акарбоза - це псевдоолігосахарид, який діє як конкурентний оборотний інгібітор альфа-амілази підшлункової залози та альфа-глюкозидгідролази. Виробляється деякими штамми роду *Actinoplanes* та *Streptomyces*.

На першому етапі вибору різні штами продуцентів порівнюються за такими показниками: інгібувальна активність, час культивування та склад поживного середовища необхідного для отримання даного продукту. Узагальнені дані наведені у таблиці 2.1.

**Поживні середовища для культивування штамів мікроорганізмів
продуцентів акарбози**

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Концентрація, г/л	Тривалість процесу, год	Особливості технологічного процесу	Використана література
<i>Streptomyces</i> M37	Сахароза - 40 Глюкоза – 15 Мальтоза – 10 Пептон – 2 Дріжджовий екстракт – 1 K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O – 1.5 NH ₄ Cl – 6 MgSO ₄ – 1 FeSO ₄ ×7H ₂ O – 0.02	6.2	168	Культивування здійснювали періодичним способом; додавання глюкози та мальтози до ферментаційного середовища на 72 год культивування; рН процесу підтримували на рівні 7,0 протягом перших 72 годин, а потім підвищили до 8,0; температура підтримувалася на рівні 28 °С.	Ren F, Chen L, Xiong S, Tong Q. Enhanced acarbose production by <i>Streptomyces</i> M37 using a two-stage fermentation strategy. PLoS One. 2017 Feb 24;12(2):e0166985.
<i>Actinoplanes</i> <i>utahensis</i> ZJB-08196	Мальтозний сироп 270 мл (11 г/л глюкози та 160 г/л мальтози) Глюкоза – 40 Соеве борошно – 17 Глутамат натрію – 5 CaCO ₃ – 2.5 CaCl ₂ – 2.5 FeCl ₃ – 0.5 K ₂ HPO ₄ – 1 Валідамін – 0.02	6.06	216	Культивування здійснювали періодичним способом, температура підтримувалася на рівні 28 °С; рН процесу підтримували на рівні 7,0; додавання підживлювального розчину у об'ємі 5 мл на 72 та 96 годину культивування.	Xue YP, Qin JW, Wang YJ, Wang YS, Zheng YG. Enhanced production of acarbose and concurrently reduced formation of impurity c by addition of validamine in fermentation of <i>Actinoplanes utahensis</i> ZJB-08196. Biomed Res Int. 2013;2013:705418.

<i>Actinoplanes sp.</i> A56	Глюкоза – 50 Крохмаль – 30 Кукурудзяний екстракт – 10 Соєве борошно – 20 Глутамат натрію – 1 FeCl ₃ – 0.5 K ₂ HPO ₄ – 1 CaCO ₃ – 2	5	168	Культивування здійснювали у 30000-літровому ферментері; значення рН становили 7,0-7,2 і 40-50% концентрації розчиненого кисню; температура підтримувалася на рівні 28 °С; концентрація цукру підтримувалася на рівні 75-80 г/л підживлювальним методом.	Li KT, Zhou J, Wei SJ, Cheng X. An optimized industrial fermentation processes for acarbose production by <i>Actinoplanes sp.</i> A56. <i>Bioresour Technol.</i> 2012 Aug;118:580-3.
<i>Actinoplanes sp.</i> SIPI2207	Глюкоза – 30 Мальтоза – 30 Соєве борошно – 30 K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O – 4 FeCl ₃ ×6H ₂ O – 1.5 CaCl ₂ – 3.5 CaCO ₃ – 3	8.04	192	Температура підтримувалася на рівні 28 °С; значення рН становили 7,0-7,2; 20 г/л глюкози додають на 48 год, 72 год, 96 год та 120 год.	Li Z, Yang S, Zhang Z, Wu Y, Tang J, Wang L, Chen S. Enhancement of acarbose production by genetic engineering and fed-batch fermentation strategy in <i>Actinoplanes sp.</i> SIPI12-34. <i>Microb Cell Fact.</i> 2022 Nov 23;21(1):240.

На другому етапі порівнюється вартість поживних середовищ для культивування обраних продуцентів (табл. 2.2).

З табл. 2.2 видно, що вартість 1 л середовища для культивування є найнижчою для *Actinoplanes sp.* A56 а найвищою - *Actinoplanes utahensis* ZJB-08196 .

Таблиця 2.3

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело*
<i>Streptomyces M37</i>	Сахароза – 40	90	3.6	1
	Глюкоза -15	100	1.5	2
	Мальтоза - 10	125	1.25	3
	Пептон - 2	112	0.2	4
	Дріжджовий екстракт – 1	1100	1.1	5
	$K_2HPO_4 \times 3H_2O$ -1.5	60	0.1	6
	NH_4Cl – 6	30	0.2	7
	$MgSO_4$ – 1	82	0.1	8
	$FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0.02	230	0.005	9
	Вартість 1 л середовища – 8,06 грн			
<i>Actinoplanes utahensis ZJB-08196</i>	Мальтоза - 34	125	4.25	3
	Глюкоза - 42	100	4.2	2
	Соєве борошно - 17	76	1.3	10
	Глутамат натрію – 5	108	0.54	11
	$CaCO_3$ – 2.5	6	0.02	12

	CaCl ₂ – 2.5	67	0.17	13
	FeCl ₃ – 0.5	155	0.08	14
	K ₂ HPO ₄ – 1	120	0.12	15
	Валідамін – 0.02	11181 8	2.24	16
	Вартість 1 л середовища – 12,92 грн			
<i>Actinoplanes sp. A56</i>	Глюкоза – 50	100	5	2
	Крохмаль – 30	24	0.72	17
	Кукурудзяний екстракт – 10	65	0.65	18
	Соєве борошно – 2	76	0.15	10
	Глутамат натрію – 1	108	0.11	11
	FeCl ₃ – 0.5	155	0.07	14
	K ₂ HPO ₄ – 1	120	0.12	15
	CaCO ₃ – 2	6	0.01	12
	Вартість 1 л середовища – 6,83 грн			
<i>Actinoplanes sp. SIPI2207</i>	Глюкоза – 30	100	3	2
	Мальтоза – 30	125	3.7	3
	Соєве борошно – 30	76	2.3	10
	K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O - 4	60	0.24	6
	FeCl ₃ ×6H ₂ O – 1.5	159	0.24	19
	CaCl ₂ – 3.5	67	0.24	13

CaCO ₃ – 3	6	0.02	12
Вартість 1 л середовища – 9,74 грн			

Примітка: * – ціни наведено з урахуванням ПДВ станом на січень 2023 р.:

1. <https://www.covalent.com.ua/ru/shop/sucrose/>
2. <https://prom.ua/ua/p1511558517-glyukoza-pischevaya.html>.
3. <https://prom.ua/ua/p734456610-maltoza-maltobiozasahar-solodovyj.html>
4. <https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html>
5. <https://prom.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html>
6. <https://ua.bizorg.su/fosfaty-r/p3885928-kaliy-fosfornokislyy-2zameshtenny-3vodnyy-fosfat-kaliya-min-fasovka-10g-gost-249375-k2hpo4-3h2o>
7. <https://prom.ua/ua/p1341990935-hlorid-ammoniya-roznichnye.html>
8. https://klebrig.com.ua/ua/p1323818049-sulfat-magniya-klebrig.html?source=merchant_center&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gclid=Cj0KCQjwjryjBhD0ARIsAMLvnF-DsS1QahybbjDuhtZzSh6ZKr0BjUaJqgVz1zQZYzKE63tcw4cSL4aAjF3EALw_wcB
9. <https://klebrig.com.ua/ua/p1207572772-zheleznyj-kuporos-klebrig.html>.
10. <https://prom.ua/ua/p975818606-muka-soevaya.html>.
11. https://all-him.com.ua/p/1504516109-glutamat-natriya-ot-1kg/?o=tG0FgrPrkLQIV3l-IMkrYg==&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=Perf_Max-Turboweb&gclid=Cj0KCQjwjryjBhD0ARIsAMLvnF8wxwWMzj3OkO9xli7IVxGeeRZYybDaZaMmKZKL0vrlIW7VnybZP34aAnGXEALw_wcB
12. <https://flagma.ua/uk/caco3-karbonat-kalciya-99-99-o8778043.html>.
13. https://rozetka.com.ua/ua/279325848/p279325848/?utm_l=r&gclid=CjwKCAiA5sieBhBnEiwAR9oh2vDNf1zzSG0xwPjAlfJNxo97uKenaG2ldXywiXBYy6L_J4zA6WxI4BoC4w4QA_vD_BwE.
14. <https://prom.ua/ua/p1375361852-hlorid-zheleza-1kg.html?&primelead=MS45>.
15. <https://flagma.ua/kaliy-fosfornokisly-2-zameshchenny-ch-o2563762.html>.

16. <https://chemondis.com/marketplace/search/?substances.name=Validamine>
17. https://ustarch.all.biz/uk/krohmal-kartoplyanyj-u-mishkah-pp-g20066753?utm_currency=UAH&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=shopping_ua_personal&utm_content=260971&gclid=CjwKCAiA5sieBhBnEiwAR9oh2ni3KE7OGBc-p5ps1wAmTo2XBP5F94jp2XZVuFgRny6RSd-E99RTNhoCHooQAvD_BwE
18. <https://prom.ua/ua/p1310282824-ekstrakt-kukuruznyj-litrov.html?&primelead=MC44NQ>
19. https://rozetka.com.ua/ua/312648079/p312648079/?gclid=Cj0KCQjwjryjBhDOARIsAMLvnF8KKFa2jVsSAgi0njuS-IgTtF5XBJoHW30TAnDc98JyNITK1RsL_BUaAvZTEALw_wcB

На основі даних таблиць 2.1 і 2.2 було складено узагальнювальну таблицю (табл. 2.3), де представлено умовну вартість цільового продукту та продуктивність біологічних агентів:

Таблиця 2.4

Умовна вартість 1 г продукту при культивуванні штамів мікроорганізмів

Продуцент	Вартість 1 л середовища, грн	Концентрація цільового продукту, г/л	Умовна вартість 1 г продукту, грн	Тривалість культивування, год	Кількість утвореного продукту, синтезованого за год, г/год
<i>Streptomyces</i> M37	8,06	6,2	1,34	168	0,037
<i>Actinoplanes</i> <i>utahensis</i> ZJB-08196	12,92	6,06	2,1	216	0,028
<i>Actinoplanes</i> sp. A56	6,86	5	1,37	168	0,029
<i>Actinoplanes</i> sp. SIPI2207	9,74	8,04	1,21	192	0,041

Узагальнивши всю інформацію, можна виснувати, що для одержання акарбози найбільш доцільно буде використовувати штам *Actinoplanes* sp.

SPI2207, який вигідно вирізняється за концентрацією синтезованої акарбози, швидкістю її синтезу, а також умовною вартістю 1 г цільового продукту, хоча і вартість поживного середовища не є найбільш економічно вигідною.

2.4 Розрахунок потреби у субстанції для випуску лікарського засобу та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

У 2020 році було зареєстровано майже 4000 випадків захворювання на рак нирки.[61] Враховуючи наявні на ринку України препарати, а також складність включення препарату до протоколів лікування, пропонується забезпечити цим засобом 15% хворих. Згідно даних клінічного дослідження використовують дозування 100 мг один раз на день, курс лікування становить приблизно 28 днів, за потребою продовжується. Тоді річна потреба в акарбозі становитиме $4000 * 2800 * 15 / 100 = 1680$ г

Обраний біологічний агент *Actinoplanes sp. SIPI2207* синтезує акарбозу на рівні 8,04 г/л за 192 години культивування.[74] Об'єм культуральної рідини, необхідної для отримання 1680 г акарбози становить:

$$8,04 \text{ г} - 1 \text{ л}$$

$$1680 \text{ г} - X$$

$$X = 209 \text{ л}$$

З урахуванням втрат цільового продукту при виділенні (30 %), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини (V_p):

$$V_p = 209 / 0,7 = 300 \text{ л}$$

Кількість культуральної рідини за цикл ферментації. Приймаємо кількість робочих трудоднів (Трд) 100, тоді кількість продукту на добу (V_d) становитиме:

$$V_d = V_{gp} / \text{Трд} = 300 / 100 = 3 \text{ л}$$

Тривалість циклу ферментації (Тцф) становить 200 год (192 год – тривалість виробничої ферментації, 8 год – час підготовки ферментера до роботи). Тоді кількість продукту за один цикл ($V_{цк}$) становитиме:

$$V_{цк} = K_1 * V_d * \text{Тцф} / 24 = 1,2 * 3 * 200 / 24 = 30 \text{ л /цикл}$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій, приймаємо це значення рівним 1,2;

Кількість циклів ферментації складатиме:

$$N_{\text{цк}} = 200/30 = 7 \text{ циклів}$$

Щоб отримати за один цикл $V_{\text{цк}} = 30$ л культуральної рідини необхідно врахувати втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становитимуть 10%. Таким чином кількість поживного середовища, враховуючи посівний матеріал, перед виробничим біосинтезом у ферментері буде становити:

$$V_{\text{роб}} = V_{\text{кр}} / (1 - E_{\text{ф}}) = 20 / (1 - 0,1) = 33,3 \text{ л}$$

де $E_{\text{ф}}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу

Обравши коефіцієнт заповнення ($K_{\text{зап}} = 0,6$), розрахуємо можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{\text{ф}}$):

$$V_{\text{ф}} = V_{\text{роб}} / K_{\text{зап}} = 33,3 / 0,6 = 55,5 \text{ л}$$

Прийmemo найближчий за об'ємом ферментер: $V_{\text{сф}} = 50$ л та уточнимо, прийнятий нами раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{\text{зап}} = V_{\text{роб}} / V_{\text{сф}} = 33,3 / 50 = 0,66$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,7), тому геометричний об'єм ферментера вибрано вірно. Кількість посівного матеріалу (доза) для ферментера становить 10 % від об'єму поживного середовища. Отже, кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{\text{пс}} = V_{\text{роб}} / (1 + X_{\text{вф}}) = 33,3 / (1 + 0,1) = 30,3 \text{ л}$$

де $X_{\text{вф}}$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм}} = V_{\text{роб}} - V_{\text{пс}} = 33,3 - 30,3 = 3 \text{ л}$$

Таку кількість інокуляту можна одержати у посівному апараті об'ємом 5 л (коефіцієнт заповнення - 0,6).

Тоді кількість поживного середовища в посівному апараті буде становити:

$$V_{\text{пс}} = V_{\text{роб}} / (1 + X_{\text{вф}}) = 3 / (1 + 0,1) = 2,7 \text{ л}$$

Кількість посівного матеріалу становить:

$$V_{\text{пм}} = V_{\text{роб}} - V_{\text{пс}} = 3 - 2,7 = 0,3 \text{ л}$$

Таку кількість інокуляту можна отримати в лабораторних умовах, використовуючи колби на качалках.

Для цього використовуємо качалочні колби об'ємом $V_{\text{колб}} = 750$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$. Тоді кількість колб для посівного матеріалу становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}) = 300 / (750 \times 0,2) = 2 \text{ качалочні колби.}$$

Отже, процес отримання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу арабози буде проходити у два етапи - лабораторне вирощування (на агаризованому середовищі і в рідкому поживному середовищі в колбах на качалці) та у посівному апараті об'ємом 5 л.

РОЗДІЛ 3 ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ

3.1 Обґрунтування стадій виділення та очищення цільового продукту

Щоб виготовити ефективний, якісний та безпечний лікарський засіб, потрібно підібрати та обґрунтувати вибір усіх необхідних технологічних операцій.

Акарбоза є мікробним позаклітинним псевдоолігосахаридом, що продукується бактеріями роду *Actinoplanes* та рідше *Streptomyces*. Технологічна схема виділення та очищення акарбози для одержання лікарської субстанції включає: відділення біомаси центрифугуванням, ультрафільтрацію, катіонообмінну адсорбцію та елюювання, знебарвлення розчину акарбози активованим вугіллям, фільтрування розчину акарбози від активованого вугілля, концентрування та отримання сухої акарбози.

3.2 Обґрунтування вибору способу відділення біомаси

Після процесу біосинтезу, отримана культуральна рідина складається з бактеріальної маси, залишків компонентів поживного середовища та метаболітів.

Відомі різні способи відділення біомаси, з яких найчастіше використовують дані методи:

- Центригування та сепарування
- Фільтрація
- Флотація.

Центрифугування - процес розділення рідких неоднорідних систем як результат дії відцентрових сил. Під дією цих сил осадження поєднується з ущільненням осаду, що утвориться. Метод центрифугування характеризується високою продуктивністю процесу. Крім того, перевагами є компактність обладнання, відсутність допоміжного обладнання, можливість промивки осаду,

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Палько Л.О.</i>				РОЗДІЛ 3.			<i>Літера</i>
<i>Керівник</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				ОБҐРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ			<i>Аркуш</i>
<i>Н. контр</i>					ВИДІЛЕННЯ ТА			<i>Аркушів</i>
<i>Консульт</i>					ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ			51
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>				Кафедра БТМ			

високий ступінь осушування та широкі можливості автоматизації процесу. Разом із цим, недоліками центрифуг є: високі вимоги до точності виготовлення вузлів, високі витрати енергії на привід, висока вартість, а також руйнівний вплив на клітини. Центрифуги є швидкохідними машинами, які вимагають ретельного спостереження і обслуговування. [75]

Сепарація – процес відділення твердої фази від рідкої, що ґрунтується на відділенні часточок з різними характеристиками. Рушійною силою процесу також являється відцентрова сила. Сепарування має такі переваги перед іншими методами як відсутність потреби в застосуванні фільтрувальних добавок, процес легко піддається автоматизації, компактність устаткування. Недоліками цього способу є великі витрати енергії, зниження ефективності розділення суспензій з високим вмістом твердої фази.

Фільтрування – процес розділення суспензій за допомогою фільтрувальних пористих перегородок, що здатні пропускати рідину, але затримують завислі тверді частинки. Перевагами цього методу є: можливість промивання та віджиму осаду з метою зменшення його вологості; відсутність руйнівного впливу на клітини. Фільтрування вважається менш енергоємним, але одночасно і менш ефективний процес порівняно з сепарацією. Також метод фільтрування підходить не для всіх культуральних рідин, адже деякі з них характеризуються здатністю до закупорення пор фільтрувального матеріалу. Фільтрування малих об'ємів культуральної рідини, як правило, проводять на рамних фільтрах, а великих — на барабанних вакуум-фільтрах. Процес фільтрування можливо значно прискорити, якщо культуральну рідину піддати попередній тепловій обробці або ж додати флокулянти. [76]

Отже, проаналізувавши дані методи відділення біомаси, врахувавши особливості біологічного агента та високим вмістом твердої фази обираємо метод центрифугування, використовуючи проточний тип центрифуги. Параметри центрифугування встановлюємо 6000 об/хв упродовж 40 хв.

3.3 Обґрунтування вибору способу очищення фільтрату від високомолекулярних домішок

Очистка фільтрату від високомолекулярних домішок найчастіше здійснюється за допомогою баромембранних процесів – ультрафільтрації чи зворотного осмосу.

Ультрафільтрація – це процес розділення та концентрування розчинів за допомогою напівпроникних мембран.

Ультрафільтрацію, як правило, використовують для розділення систем, в яких молекулярна маса розчинених компонентів перевищує молекулярну масу розчинника. За допомогою ультрафільтрації можливо поєднувати процеси концентрування та очищення, скоротивши таким чином число стадій технологічного процесу при виробництві фармацевтичних і біологічних препаратів.[76]

Зворотний осмос – це метод розділення розчинів шляхом фільтрування під тиском через напівпроникні мембрани, що пропускають розчинник і затримують молекули або іони з допомогою селективних мембран.

Отже, від звичайної фільтрації процес зворотнього осмосу відрізняється відділенням частинок менших розмірів та величинами тиску. Тиск, що необхідний для проведення процесу зворотного осмосу (6-10 МПа), набагато більший, ніж для ультрафільтрації (0,1-0,5 МПа). В установках зворотного осмосу розмір пор мембрани менший, що дозволяє затримувати молекули з меншим діаметром. Однак, враховуючи вищенаведену інформацію, а також вищу чутливість мембран для зворотнього осмосу до домішок у вихідному розчині та уповільнення процесу через засмічення мембрани та високу вартість обладнання, можна зробити висновок, що в даному випадку доцільніше використовувати установку ультрафільтрації.[77] Розмір пор мембрани на даному етапі обираємо рівним 1000 Da, продуктивність установки – 50 л/год.

3.4 Обґрунтування вибору способу виділення акарбози

У науковій літературі застосовуються різні методи для виділення й очистки акарбози, та переважна більшість присвячена іонообмінній хроматографії. [78,79]

Принцип, що лежить в основі цього методу, ґрунтується на тому, що заряджені молекули зворотньо адсорбуються на іонообміннику, так що молекули можуть зв'язуватися і відділятися відповідно до іонного складу середовища. Розділення іонів, що містяться у розчині, засновано на неоднаковій здатності їх до обміну з іонами іонообміннику. Виділяють два типи – катіонну та аніонну іонообмінні хроматографії. Під час катіонної іонообмінної хроматографії затримуються додатньо заряджені катіони, адже нерухлива фаза має від'ємно заряджені функціональні групи, в той час при проведенні аніонної іонообмінної хроматографії зв'язуються від'ємно заряджені аніони, так як нерухлива фаза має додатньо заряджені функціональні групи.

Найчастіше користуються іонообмінниками на основі полістиролу, поліакрилату або поліметакрилату. Катіонообмінники, найчастіше, представлені сульфонованими полістиролами та карбоксиметил (КМ)–целюлозою.

Вуглеводи та подібні за структурою сполуки часто несуть заряджені групи які дозволяють їм бути відокремленим на іонних обмінниках. Дана методика дозволяє відокремити дуже схожі вуглеводи і демонструє високий потенціал відділення. Акарбоза володіє розчинністю 1,4 кг/л при 20 °С та має значення рКа 5,1. Кислотний характер акарбози може бути пов'язаний з дисоціацією деяких гідроксильних груп молекули. [80]

Згідно з результатами експериментів [81], в якому досліджувалися такі іонообмінні смоли як Finex CS9GC, Finex CS10GC, Purolite SST60 та Purolite CT151, найкращі показники очищення у водному середовищі виявились у смоли Finex CS10GC , катіонної смоли на основі сульфонового полістирол-дивінілбензолу. Даний гелеподібний сильний катіоніт показав найбільшу обмінну ємність та найкращу продуктивність.

За рекомендаціями 10 г іонообмінної смоли поміщають в контакт з 1 л розчину акарбози. Швидкість потоку становить 0,5 л/год.

3.5 Вибір способу знебарвлення акарбози

Знебарвлення за допомогою активованого вугілля є доволі поширеним процесом, що використовується у фармацевтичній промисловості для

знебарвлення та видалення кольорових домішок та сторонніх ароматичних сполук з фармацевтичних продуктів або напівпродуктів. Активоване вугілля є високопористою формою вуглецю з великою площею поверхні, що дозволяє йому ефективно адсорбувати домішки. Окрім цього активоване вугілля сумісне з широким спектром фармацевтичних інгредієнтів, не взаємодіє з цільовим фармацевтичним продуктом і не змінює його. [82]

3.6 Вибір способу концентрування акарбози

Після попередньої стадії необхідно очистити розчин акарбози від активованого вугілля. Для цього можливо використовувати фільтрацію або осадження.

Фільтрування - це метод, який використовується для відокремлення твердих частинок від рідин або газів шляхом пропускання суспензії через фільтруючі матеріали, утворюючи осад.

Існує кілька типів конструкцій фільтрів, які використовуються в промисловості. Фільтрувальні апарати класифікуються за такими ознаками:

- періодичної та безперервної дії, (на фільтрах безперервної дії фільтрування здійснюється лише при постійній різниці тисків);
- фільтри, що працюють під вакуумом, під надлишковим тиском та комбіновані фільтри;
- за напрямком сили ваги і руху фільтрату фільтри поділяються на протилежні, співпадаючі та перпендикулярні напрямки. [83]

Осадження – метод, що полягає в утворенні твердого осаду з розчину. Він ґрунтується на принципі, що певні речовини стають менш розчинними за певних умов, внаслідок чого вони відокремлюються від розчину у вигляді твердих частинок. Осадження відбувається під дією сили ваги, відцентрових сил або рідше електростатичних. Осадження, що відбувається під дією сили ваги, називається відстоюванням.

Швидкість осідання завислих частинок залежить від густини і ступеня дисперсності частинок. Невелика швидкість осадження частинок під час відстоювання не забезпечує видалення з суміші дрібнодисперсних частинок,

тому відстоювання використовується лише для грубого розділення неоднорідних суспензій.

Ефективнішим методом вважається вакуумна фільтрація. Вакуумна фільтрація - це метод, який зазвичай використовується в лабораторіях і промислових процесах для відокремлення твердих речовин від рідин. Вона полягає у створенні вакууму у фільтрувальному апараті для прискорення процесу фільтрації. Перевагами цього типу фільтрації є вища швидкість фільтрування, що заощаджує час та збільшує ефективність. Отже, для даного процесу доцільно використати метод вакуумної фільтрації.

Надалі, перед етапом сушіння, постає необхідність концентрування розчину. Процес концентрування проводять баромембранні процеси (ультрафільтрація, діафільтрація, зворотній осмос) або випарювання, екстракцію.

Екстракцією називають процес витягу одного або декількох компонентів з розчинів або твердих тіл за допомогою певних розчинників (екстрагенти). При взаємодії з екстрагентом у ньому мають добре розчинитися компоненти, що витягаються, і значно слабкіше або зовсім не розчинитися інші компоненти вихідної суміші. Екстракція найчастіше використовується для поділу суміші термолабільних речовин.

Процес концентрування розчинів, який включає в себе видалення розчинника шляхом його випарювання при кипінні, отримав назву випарювання. Під час випарювання відбувається часткове вилучення розчинника із загального об'єму розчину за температури кипіння, оскільки у звичайних випарних апаратах випарований розчин має залишатися у рідкому стані. Повне вилучення розчинника у таких апаратах можливе лише тоді, коли розчинена речовина є або рідкою, або перебуває у розплавленому стані при температурі процесу. Випарювання широко використовується для збільшення концентрації розчинів, які мають розведену структуру.

Для термолабільних речовин використовують випарювання під вакуумом, при якому нагрівання здійснюється максимум до температури 50-60 °С.

Випарювання під вакуумом має переваги перед випарюванням під атмосферним тиском. Хоча такий спосіб випарювання має один недолік. Тепло випаровування розчинника із розчину дещо зростає зі зниженням тиску й відповідно збільшується витрати пари на випарювання 1 кг розчинника, найчастіше води.

Найбільш поширеними випарними апаратами є трубчасті вакуум-випарні апарати. Вони відрізняються широкою конструкційною різноманітністю. У цих апаратах рідина, що випаровується знаходиться з однієї сторони стінок труб, а теплоносій – з іншої. Трубчасті вакуум-випарні апарати можуть бути з природним чи вимушеним потоком розчину.

Загалом, перевагами цього методу є менша вартість обладнання, ніж того, що застосовується в баромембранних процесах. Недоліки - значні витрати пари, обладнання для випарювання громіздке та енергозатратне під час експлуатації. Це пов'язано з необхідністю підтримувати високі значення температур в даних апаратах. [84]

Головною особливістю фільтраційних апаратів, що працюють за принципом баромембранних процесів (зворотний осмос, мікрофільтрація, ультрафільтрація, нанофільтрація) є наявність напівпроникної мембрани на основі кераміки, полімерів або нановуглецевих матеріалів із селективною проникністю за певними компонентами поділюваної суміші.

Для зворотного осмосу, як правило, використовують плоскокамерні, трубчасті та рулонні апарати; для ультрафільтрації – плоскокамерні та трубчасті; для мікрофільтрації – ті ж апарати, а також звичайні патронні фільтри.

Процес ультрафільтрації здійснюється під дією різниці тиску приблизно 0,2-1,0 МПа з обох сторін мембрани. Ультрафільтрація використовується для розділення систем, де молекулярна маса розчинених компонентів значно перевищує молекулярну масу розчинника. Процес ультрафільтрації подібний до зворотнього осмосу за способом виготовлення мембран та конструктивними особливостями апаратів. Відмінність полягає в вищих вимогах до відведення концентрованого розчину речовини від поверхні мембрани. Тому для

проведення ультрафільтрації використовують менш проникні мембрани з високим рівнем дисперсності та певним рівнем гідрофільності або зарядом поверхні.

Нанофільтрація – процес розділення речовин при тиску близько 0,5–8,0 МПа, використовуючи мембрани. У процесі нанофільтрування можуть частково (40-60 %) затримуватися низькомолекулярні електроліти. Нанофільтрація є альтернативою вакуум-випарюванню, адже має на порядок менші енергетичні витрати, зберігає компоненти у їх нативній формі та дає змогу концентрувати цільовий продукт з видаленням деяких одновалентних іонів (Na^+ , K^+ і т.п.). [85]

Проаналізувавши вищезазначені методи концентрування розчинів, віддамо перевагу нанофільтрації, що дозволить видалити залишкові низькомолекулярні домішки. Для проведення процесу обираємо нанофільтраційні полімерні мембрани TriSep TS40 з розміром пор 200 Da.

3.7 Вибір способу сушіння для отримання порошку акарбози

Сушіння – це процес видалення рідини з продуктів різного агрегатного стану. Зазвичай сушінням видаляється вода чи леткі органічні розчинники. У хімічній галузі застосовують різні методи сушіння, такі як конвективні, контактні, інфрачервоні, ультразвукові, сублімаційні, сушіння в полі струмів високої частоти чи діелектричні сушарки залежно від того, як теплова енергія подається.

В конвективних сушарках тепло для сушіння матеріалу подається за допомогою сушильного агента, такого як повітря, топкові гази чи перегріта пара, за допомогою постійної конвекції. Ці сушарки можуть діяти як безперервно, так і періодично. Під час конвективного сушіння випарована волога виводиться разом із відпрацьованим сушильним агентом.

У контактних сушарках теплообмін проходить за рахунок передачі тепла і маси між нагрітою поверхнею і вологим матеріалом. Залежно від технології сушіння і властивостей матеріалу температура поверхні може бути понад 100°C.

У сушарках інфрачервоного типу процес здійснюється завдяки передачі тепла короткохвильовими променями інфрачервоного діапазону. Під час інфрачервоної сушки використовується довжина хвилі випромінювання, що впливає лише на воду, яка міститься в продукті. Це випромінювання не поглинається самим продуктом, що дозволяє проводити сушіння при низьких температурах (40-60°C).

Сублімаційне сушіння, також відоме як ліофілізація, - це процес зневоднення, яке використовують для видалення води з живих мікроорганізмів, ферментів та інших термолабільних продуктів. Його принцип полягає у випаровуванні води із замороженого стану, обходячи рідкий агрегатний стан. Тепло подається до матеріалу, що висушується, шляхом контакту з теплою поверхнею або за допомогою радіаційного впливу. Більшість часу матеріал перебуває при температурі -15...-30°. Оскільки сушіння відбувається при низьких тисках (15...150 Па), на матеріал впливає не лише тепло, а й відсутність кисню повітря. Сублімаційне сушіння застосовується, як правило, для видалення вологи з заморожених продуктів, хіміко-фармацевтичних і біопрепаратів. Ліофільне сушіння є ефективним способом зневоднення, оскільки воно забезпечує перехід вологи з твердого стану безпосередньо в газоподібний, зберігаючи структуру та об'єм матеріалу і надаючи йому дисперсність і пористість. Перевагою для використання такого сушіння в промисловості є також можливість використання сублімаційних сушарок безперервної дії. Недоліком ліофільного сушіння є те, що даний метод приблизно однаковий за витратами енергії сушінню за атмосферного тиску, але при цьому витрати на обладнання набагато вищі. [86]

Розпилювальні сушарки. Процес сушіння у такому типі сушарок протікає надзвичайно швидко (15...30 с), завдяки чому не відбуваються процеси денатурації, окислювання і т.п. Цей метод часто застосовується для сушіння біологічних і фармацевтичних препаратів, термолабільних продуктів. У результаті сушіння розпилюванням на виході отримується готовий продукт, що не вимагає зазвичай подальшого подрібнювання й має підвищену розчинність.

Однак розпилювальне сушіння вугловодів чи подібних структурно сполук до них є складним завданням. Процес часто відзначається високими втратами цільового продукту внаслідок відкладення продукту на стінках розпилювальної сушарки. Залишки розчинених речовин на стінках сушильної камери перегріваються в результаті тривалого впливу високих температур, що негативно впливає на якість продукту.[87,88]

Вакуум-сушильні шафи призначені, як і сублімаційні сушарки, для сушіння нетерmostійких продуктів, але процес відбувається за кімнатної або підвищеної температури, яку витримує продукт. Ці апарати призначені для сушіння порівняно невеликих кількостей вологого матеріалу. Недоліками вакуум-сушіння є невисока продуктивність, отримання матеріалу у пресованому вигляді та необхідність виділення великих площ під обладнання.

Порівнявши можливі для використання конструкції сушарок обираємо вакуумну сушильну шафу, так як дана сушарка малогабаритна, може використовуватись на малих підприємствах. Відзначається простотою конструкції.

РОЗДІЛ 4

Підбір технологічного обладнання для післяферментаційних стадій з урахуванням матеріальних потоків по стадіях

Вихідні дані:

- 1). Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ($V_{кр}$) = 30 л;
- 2). Концентрація акарбози у культуральній рідині ($C_{ак}$) = 8,04 г/л;
- 3). Концентрація біомаси *Actinoplanes sp. SIPI2207* в культуральній рідині ($C_{біом}$) = 20 г/л;
- 4). Втрати на стадіях виділення і очищення акарбози ($W_{втрат}$) = 30 %;

Початкова кількість сухої акарбози в культуральній рідині складає $30 \cdot 8,04 = 241,2$ г, а кінцева кількість сухої акарбози, з урахуванням 30 %-ів втрат, має становити 169 г.

Розподіл втрат по усім стадіям виділення і очищення наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям

№ п/п	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоків на стадії	Кількість по стадіям			Необхідне обладнання
			Надійшло	Втрати (разом 30 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7

Продовження таблиці 4.1

ТП 2 Зберігання культуральної рідини						
1	ТП 2 Зберігання культуральної рідини	Культуральна рідина	30 л	-	30 л	Збірник культуральної рідини об'ємом 40 л
ТП 3 Відділення біомаси						
2	ТП 3.1 Центрифугування культуральної рідини	Біомаса	600 г	-	600 г	Центрифуга зі швидкістю потоку 0,1 - 4,0 л / хв
		Супернатант	29,4 л	1%	29,2	Перекачується за допомогою насосу продуктивністю 100 л/хв до збірника об'ємом 40 л

Продовження таблиці 4.1

ТП 4 Очищення супернатанту від домішок						
3	ТП 4.1 Ультрафільтрація (K = 3)	Супернатант	29,2 л	-	-	Ультрафільтраційна установка продуктивністю 50 л/год за пермеатом
		Концентрат	9,7 л	-	9,7 л	
		Пермеат	-	5 %	19,5 л	
ТП 5 Виділення акарбози						
4	ТП 5.1 Катіонообмінна адсорбція та промивання	Пермеат	19,5 л	-	-	Катіонообмінна хроматографічна колонка 16 x 44 см
		Деіонізована вода	30 л	-	-	Збірник об'ємом 40 л
		Відпрацьований розчин	-	0,5 л	30,5 л	На утилізацію

Продовження таблиці 4.1

5	ТП 5.2 Елюювання акарбози розчином соляної кислоти	Розчин соляної кислоти для елюювання (концентрація 0,05 моль/л)	28 л	-	-	Збірник об'ємом 30 л
		Елюат	-		30 л	Збірник об'ємом 35 л
ТП 6 Знебарвлення						
6	ТП 6.1 Знебарвлення розсину акарбози активованим вугіллям	Елюат	30 л	-	-	
		Активоване вугілля	1750 г	-	-	Стерильна тара
		Лужний розчин	20 мл	-	-	

Продовження таблиці 4.1

ТП 7 Фільтрування та концентрування						
7	ТП 7.1 Фільтрування розчину акарбози від активованого вугілля	Знебарвлений розчин акарбози	31 л	-	-	Установка вакуумної фільтрації потужністю 18 л/год
		Концентрат	-	-	11 л	На утилізацію
		Пермеат	-	5 %	20 л	Збірник об'ємом 25 л
	ТП 7.2 Концентрування розчину	Пермеат	20 л	-	-	Установка нанофільтрації з використанням мембран 200 Да
		Концентрат	-	-	12 л	На утилізацію
		Пермеат	-		8 л	Збірник об'ємом 10 л
ТП 8 Сушіння						

Продовження таблиці 4.1

8	ТП 8.1 Отримання сухої акарбози	Пермеат	8 л	-	-	Вакуум сушильна шафа об'ємом 31 л
		Суша акарбоза	-	10 %	169 г	

РОЗДІЛ 5 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання ділянки стадій виділення та очистки

Таблиця 5.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
РЗ-1	Реактор-змішувач	1	Реактор-змішувач об'ємом 35 л, оснащений мішалкою. Виготовлений з нержавіючої сталі. [10]
НП-3 НП-6	Насос перистальтичний	3	Насос перистальтичний, продуктивність 100 л/год, потужність 260 В. Виробник «AQUA» (Італія)[2]
З-2 З-7 З-9	Збірник	3	Збірник СЕНВ 0,040, об'ємом 40 л Габарити - ДхШхВ - 600х500х530, Виробник «ГК Єврохіммаш К.О.» (Україна)[1]
Ц-4	Центрифуга	1	Центрифуга проточна RC 50 KSA продуктивністю 35 л/год, швидкістю 1700 rpm. Виробник «Lehmann Industrie» (Німеччина)[3]

УФ-8	Ультрафільтраційна установка	1	Ультрафільтраційна установка продуктивністю 50 л/год за пермеатом, розмір пор мембрани 1000 Да. Виробник «МКR Metzger GmbH» (Німеччина)[4]
ВН-10 ВН-12	Насос відцентровий	2	Насос відцентровий СРm 190 Продуктивність :33 л/хв , поужність:1.72 кВт .Габарити(В*Ш*Д),мм: 360*245*190). [5]
ХК-11	Хроматографічна колонка	1	Катіонообмінна хроматографічна колонка IsoPak, виробник «Merck KGaA» (Німеччина). Швидкість потоку 300 см/год, робочий тиск 700 psi, розміри 16 x 44 см. [6]
З-13	Збірник	1	Збірник об'ємом 30 л. Виробник «Стройторгсервис» (Україна) [7]
РЗ-14	Реактор-змішувач	1	Реактор-змішувач об'ємом 35 л.

			Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 304 або AISI 316, оснащений теплоізолююваною сорочкою нагріву. Виробник «Німікс» (Україна)[14]
ВН-15	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий IR 32-200NB. Продуктивність :30 л/год , поужність:5,5 кВт . Країна-виробник - Італія [8]
Ф-16	Фільтраційна установка	1	Установка вакуумної фільтрації VP-17-LF 30. Продуктивність 18 л/хв, Макс. Робочий тиск 670 мм рт. ст. (89,3 кПа). [13]
НУ-17	Установка нанофільтрації	1	Установка з використанням нанофільтраційних полімерних мембран TriSep TS40, з величиною пор 200 Da [9]
З-18	Збірник 10 л	1	Збірник об'ємом 10 л. Виготовлений з нержавіючої сталі. [10]

ПН-19	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос ВЗ-V 1201 90-260V Santoprene. Продуктивність 12 л/год. [11]
ВШ-20	Вакуум-сушильна шафа	1	Вакуум-сушильна шафа НВ-30 . Встановлена потужність - 900 Вт/год, об'єм – 31 л. Виробник «SpectroLab» (Україна) [12]
Д-21	Дезінтегратор		Дезінтегратор лабораторний ЩД-6М. Потужність - 1.1 кВт. Продуктивність не більше 200 кг/год. Виробник «Вібротехнік» (Україна) [13]

1. http://euromash.kiev.ua/ua/sborniki_emal_ua.php.
2. https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichnij-nasos-pdp-tec100-100-00-90-260v-pharmed/
3. <https://lehmann-industrie.de/en/vertical-pilot-centrifuges/>
4. <https://www.directindustry.com/prod/mkr-metzger-gmbh/product-84397-2421962.html>.
5. <https://trudovik.com.ua/pumps/>
6. https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/IsoPak-Chromatography-Process-Columns,MM_NF-C7843.
7. <https://prom.ua/ua/p15745045-emkosti-nerzhaveyuschej-stali.html?&primelead=M42>.
8. <https://epicentrk.ua/ua/shop/mplc-nasos-monoblocnij-ir-32-200nb-5-5-kvt.html>.
9. <https://www.sterlitech.com/nanofiltration-nf-membrane-ymnf2454205.html>
10. https://prom.ua/ua/p160485843dezhaemkost.html?utm_source=google_product&utm_medium=cpc&utm_content=pla&utm_campaign
11. https://prom-nasos.com.ua/ua/catalog/pumps-by-type/peristaltic_pumps/peristaltichnij-nasos-b3-v-1201-90-260v-santoprene/
12. <https://spectrolab.com.ua/ua/p27468951-vakuumnyj-sushilnyj-shkaf.html>
13. https://chemtest.com.ua/ua/drobilka_shchekovaja_laboratornaja_vibrotexnik_shchd_6m_ua
14. <https://spectrolab.com.ua/ua/p27468951-vakuumnyj-sushilnyj-shkaf.html>
15. <https://www.mrclab.com/vacuum-filtration-system>
16. <https://khimmix.ua/ua/himicheskie-reaktory/vakuumnyj-himicheskij-reaktor-351>.

РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

ДР 1. Підготовка допоміжних розчинів для стадій виділення та очистки.

ДР 1.1 Підготовка розчину соляної кислоти.

Для отримання розчину соляної кислоти концентрацією 0,05 моль/л у реактор-змішувач (РЗ-1) об'ємом 35 л подають 27,84 л води та 157 мл концентрованої (8,8 моль/л) соляної кислоти. Вмикають мішалку (50 об/хв) та перемішують 5 хвилин.

ДР 2. Підготовка вентиляційного повітря.

ДР 2.1 Забір повітря і попереднє очищення

Забір атмосферного повітря здійснюють на висоті 15 м через повітрозабірник. З метою попереднього очищення повітря пропускають через фільтр грубого очищення класу G4

ДР 2.2. Стиснення повітря

Компресування повітря здійснюють у компресорі, тиск 0,5 МПа, повітря нагрівається до 250°C.

ДР 2.3 Охолодження повітря та видалення вологи

Стиснене повітря надходить до теплообмінника, де охолоджується до температури 25-30°C. Видалення зайвої вологи здійснюють на ресивері, показник вологості після ресивера становить 50%.

ДР 2.4 Нагрівання повітря

Нагрівання повітря задля стабілізації показників температури здійснюють на теплообміннику-нагрівачі, температура повітря має становити 45-50 °С.

ДР 2.5 Тонке очищення повітря

Нагріте повітря надходить на фільтр тонкого очищення класу F8. Фільтри тонкого очищення застосовуються як фільтри другого ступеня очищення повітря.

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		Палько Л.О.			РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.					72	128
Н. контр						Кафедра БТМ ⁷²		
Консульт								
Зав. каф.		Стабніков В.П.						

ДР 2.6 Заключне очищення повітря

Тонко очищене повітря надходить на останній ступінь очищення у НЕРА-фільтрі класу Н13, що встановлений безпосередньо перед входом у приміщення.

ТП 3. Зберігання культуральної рідини.

ТП 3.1 Зберігання культуральної рідини.

Після виробничого культивування, об'єм культуральної рідини має становити 30 л. Після закінчення культивування культуральна рідина подається із ферментера до збірника (З-2) на зберігання.

ТП 4. Відділення біомаси

ТП 4.1. Центрифугування культуральної рідини

Культуральну рідину зі збірника (З-2) відцентровим насосом (Н-3) перекачують у проточну центрифугу (Ц-4) з метою відділення біомаси. Центрифугування проходить за параметрів: 6000 об/хв впродовж 40 хв. Далі біомаса йде на знешкодження, а супернатант надходить насосом (НП-6) до збірника (З-7) на стадію очищення від домішок.

ТП 5. Очищення супернатанту від домішок

ТП 5.1. Ультрафільтрація

Супернатант від ТП 3.1 надходить на ультрафільтраційну установку (УФ-8) з продуктивністю 50 л/год за пермеатом. Для фільтрації використовували дискові мембрани для ультрафільтрації марки Millipore MWCO (1000 Da), вироблені з PLBC регенованої целюлози.

Пермеат надходить у збірник (З-9) об'ємом 40 л, а концентрат передається на знешкодження.

ТП 6. Виділення акарбози

ТП 6.1. Катіонообмінна адсорбція і промивання

Зі збірника пермеат за допомогою відцентрового насосу (ВН-10) надходить на стадію катіонообмінної адсорбції. Адсорбція пермеату проходить на катіонообмінній хроматографічній колонці (ХК-11). Як катіонообмінний адсорбент використовувалась смола Finex CS10GC. Швидкість потоку становить 0,5 л/год. Далі проходило промивання концентрованого розчину деіонізованою

водою після закінчення адсорбції до прозорості та безбарвності стічної рідини хроматографічної колонки.

ТП 6.2. Елюювання акарбози розчином соляної кислоти

Як елюент використовувався розчин соляної кислоти. 28 л розчину соляної кислоти концентрацією 0,05 моль/л зі реактора об'ємом 30 л (РЗ-1) відцентровим насосом (ВН-12) перепускають через катіонообмінну колонку. Елюат надходить у реактор-змішувач (Р-14) об'ємом 35 л.

ТП 7. Знебарвлення

ТП 7.1. Знебарвлення розчину акарбози активованим вугіллям

До елюату, що знаходиться у реакторі-змішувачі (РЗ-14) додають 1750 г активованого вугілля та 20 мл 6% лужного розчину NaOH, з метою знебарвлення та нейтралізації розчину, вмикають мішалку на частоту 50-60 об/хв та перемішують 1 годину. Після цього отримана суспензія надходить на стадію фільтрування та концентрування.

ТП 8. Фільтрування та концентрування

ТП 8.1. Фільтрування розчину акарбози від активованого вугілля

Отримана на етапі ТП 6.1 суспензія надходить відцентровим насосом (ВН-15) на фільтраційну установку (Ф-16). Суспензію фільтрують під надлишковим тиском стиснутого повітря 0,08 МПа. Отриманий фільтрат надходить на стадію концентрування.

ТП 8.2. Концентрування розчину акарбози

Від фільтраційної установки (Ф-16) фільтрат подають на установку нанофільтрації (НУ-17). Для фільтрації використовують нанофільтраційні полімерні мембрани TriSep TS40 з розміром пор 200 Да. Отриманий пермеат надходить у збірник (З-18) об'ємом 10 л, а концентрат спрямовують на знешкодження.

ТП 9. Сушіння

ТП 9.1. Отримання сухої акарбози

Після процесу концентрування пермеат зі збірника (З-18) завантажуюмо у вакуум-сушильну шафу (ВШ-20). Сушку здійснювали при тиску 0.09-0.1 бар та температурі 80-85 °С упродовж 60 хв.

ТП 10. Подрібнення

ТП 10.1 Подрібнення сухої акарбози на дезінтеграторі

Висушену акарбозу подрібнюють у дезінтеграторі (Д-21). Необхідний ступінь подрібнення - $\geq 2-3$ мм. Процес триває 1 годину.

РОЗДІЛ 7

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ

Методи контролю на субстанцію акарбози проводяться згідно Аналітичної нормативної документації (АНД). [89]

Фармацевтичні субстанції являють собою сировину для лікарських засобів, як і у якості діючих речовин, так і у якості допоміжних. Вони можуть бути органічні або неорганічні за своїм походженням та одержуються шляхом екстракції, ферментації або синтезу. Субстанції повинні вироблятися в умовах, які забезпечують якість і відповідність вимогам монографії або аналітичної нормативної документації (АНД).

Таблиця 7.1

Специфікація на субстанцію акарбози

Показник якості	Допустимі межі	Методика контролю
Опис	Порошок від білого до світло-жовтого кольору	За п. 1 методів контролю, візуально
Оптичне обертання	+ 168 ° - + 183 °.	За п. 2 методів контролю, згідно з USP 781S
pH	Від 5,5 до 7,5	За п. 3 методів контролю, згідно з USP 791
Однорідність	Субстанція має проходити випробування Опис	За п. 4 методів контролю, згідно з USP 3
Кількісне визначення	Вміст акарбози має перебувати в межах від 90 % до 110 % від номінального	За п. 5 методів контролю, згідно з м. USP «Acarbose»

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>	<i>Палько Л.О.</i>				РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ	<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Керівник</i>	<i>Стабніков В.П.</i>						76	128
<i>Н. контр</i>						Кафедра БТМ		
<i>Консульт</i>								
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>							

Ідентифікація	Спектрофотоскопічний ідентифікаційний тест - ІЧ максимуми мають повністю збігатися з ІЧ максимумами для стандартного зразка; Час утримання: відповідає часу утримання основного піка розчину порівняння, що використовується у випробуванні	За п. 6 методів контролю, згідно з м. USP «Acarbose»
Супровідні домішки	домішка Da: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1,2 %); домішка Bb: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (0,5 %); домішка Ac: площа піка не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (1,6 %);	За п. 7 методів контролю, згідно з м. USP «Acarbose»

	<p>домішка Cd: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1 %);</p> <p>неспецифіковані домішки: площа піка кожної домішки не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (0,2%);</p> <p>сума домішок: сума площ піків усіх домішок не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (3 %).</p>	
Мікробіологічна чистота	<p>Допускається загальна кількість аеробних мікробів не більше 10^3 КУО/г, а загальна кількість дріжджів і пліснявих грибів не більше 10^2 КУО/г.</p>	<p>За п. 8 методів контролю, згідно з USP 61</p>
Визначення вмісту води	<p>Не більше 4.0%</p>	<p>За п. 9 методів контролю, згідно з USP 921</p>

Методи контролю

Опис. Порошок від білого до світло-жовтого кольору, без запаху. Визначається візуально на білому папері.

Оптичне обертання. Оптичне обертання — це властивість речовини обертати площину поляризації поляризованого світла. Вимірювання оптичного обертання виконується за допомогою поляриметра. Розчин для аналізу: 10 мг/мл акарбози у воді. Визначають нуль поляриметра і кут обертання площини поляризації за довжини хвилі D-лінії спектра натрію ($\lambda = 589.3$ нм) при температурі (20 ± 0.5) °C. Визначають нуль приладу з закритою трубкою; для рідин — з порожньою трубкою; для розчинів твердих речовин — з трубкою, заповненою зазначеним розчинником. Отриманий показник має бути у межах $+168^\circ - +183^\circ$.

pH. Готують зразок розчину з розрахунку 50 мг/мл акарбози у дегазованій воді Р. Промивають датчик рН спершу водою Р, далі – кількома порціями випробовуваного розчину, після чого визначають рН отриманого розчину потенціометрично за температури від 23 °C до 27 °C. Показник рН субстанції повинен бути в межах від 5,5 до 7,5.

Однорідність. Беруть чотири проби субстанції по 20-30 мг кожна, поміщають по дві проби на предметне скло, накривають другим предметним склом і міцно притискають до утворення плям діаметром близько 2 см. При розгляді одержаних проб неозброєним оком у всіх чотирьох пробах не мають виявлятися видимі частинки, сторонні включення, зміна кольору (субстанція має проходити випробування Опис). Якщо одна з проб не витримує випробування, визначення проводять додатково ще на восьми пробах. При цьому вісім додаткових проб мають витримувати випробування.

Кількісне визначення. Визначення здійснюють методом високоефективної рідинної хроматографії. Необхідні для аналізу складові:

Буфер: 0,6 мг/мл одноосновного фосфату калію та 0,35 мг/мл двоосновного фосфату натрію у воді.

Рухома фаза: Ацетонітрил і буфер (75:25)

Розчин для придатності системи: 20 мг/мл акарбози USP

Стандартний розчин: 10 мг/мл USP Acarbose

Розчин для зразка: 10 мг/мл акарбози у воді

Хроматографічна система: рідинний хроматограф, оснащений колонкою розмірами 4,0 мм × 25 см; температура колонки: 35°; детектор: УФ 210 нм; швидкість потоку: 2 мл/хв; об'єм ін'єкції: 10 мкл.

Процес здійснюють так: окремо ін'єктують 10 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння в колонку, записують хроматограми, визначають час утримання, обчислюють частку акарбози за формулою:

$$\text{Вміст} = (r_u/r_s) * (C_s/C_u) * 100 ,$$

де r_u – час утримання для випробовуваного зразка, r_s – час утримання для стандартного зразка, C_u – концентрація акарбози у випробовуваному розчині (мг/мл), C_s – концентрація акарбози у стандартному розчині (мг/мл). Вміст акарбози повинен перебувати в межах від 90,0 % до 110,0 %.

Ідентифікація. Ідентифікація проводиться методом інфрачервоної спектроскопії. Інфрачервоний спектр зразка та відповідного стандартного зразка визначати в діапазоні від 3500 см⁻¹ до 1000 см⁻¹. Інфрачервоний спектр зразка має повністю збігатися зі спектром стандартного зразка. Ідентифікація за часом утримання - час утримання розчину зразка має відповідати часу утримання основного піка стандартного розчину, що використовується у випробуванні Кількісне визначення.

Супровідні домішки. Визначення здійснюють методом високоефективної рідинної хроматографії. Для аналізу необхідні такі складові:

- Стандартний розчин 1: 0,2 мг/мл розчин акарбози у воді, піпетуючи 1,0 мл стандартного розчину з аналізу в мірну колбу на 50 мл. Розвести водою до об'єму.
- Розчин для визначення чутливості: 0,02 мг/мл розчин акарбози у воді, піпетуючи 10,0 мл стандартного розчину 1 у мірну колбу на 100 мл. Розвести водою до об'єму.

- Зразки: розчин придатності системи, стандартний розчин 1, та розчин для визначення чутливості.

Режим роботи хроматографічної системи: рідинний хроматограф, оснащений колонкою розмірами 4,0 мм × 25 см; температура колонки: 35°; детектор: УФ 210 нм; швидкість потоку: 2 мл/хв; об'єм ін'єкції: 10 мкл.

Нормування:

- домішка Da: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1,2 %);

- домішка Bb: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (0,5 %);

- домішка Ac: площа піка не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (1,6 %);

- домішка Cd: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1 %);

- неспецифіковані домішки: площа піка кожної домішки не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (0,2%);

- сума домішок: сума площ піків усіх домішок не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (3 %).

Мікробіологічна чистота. Допускається загальна кількість аеробних мікробів не більше 10^3 КУО/г, а загальна кількість дріжджів і пліснявих грибів не більше 10^2 КУО/г.

Для аналізу відбирають 10 г субстанції після чого додають 100 мл фосфатного буферу (рН 7,2), перемішують до розчинення, тим самим отримуючи розведення 1:10. З приготованого розчину готують розведення 1:100, 1:1000, 1:10000 і 1:100000 (1 мл попереднього розведення + 9 мл води). Для аналізу загального числа аеробних мікроорганізмів і загального числа дріжджів і цвілевих грибів використовують останні три розведення.

Визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і загального числа дріжджів і цвілевих грибів проходить за наступної процедури: по 1 мл з кожного розведення висівають на чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром (для визначення

загального числа аеробних мікроорганізмів) і агаром Сабуро з декстрозою (для визначення загального числа дріжджів і цвілевих грибів), після чого інкубують чашки за температури від 30 °С до 35 °С від 3 діб до 5 діб та від 20 °С до 25 °С від 5 діб до 7 діб для вирощування бактерій і грибів відповідно. Для обліку використовуються тільки ті чашки, на яких кількість колоній не перевищує 250 для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і 50 для визначення загального числа дріжджів і цвілевих грибів.

Необхідні для аналізу поживні середовища:

Соєво-казеїновий агар:

Панкреатичний гідролізат казеїну - 15,0 г

Папаїновий гідролізат соєвих бобів - 5,0 г

Натрію хлорид - 5,0 г

Агар - 15,0 г

Вода дистильована або очищена - 1000 мл

pH після стерилізації - $7,3 \pm 0,2$

Агар Сабуро з декстрозою:

Декстроза - 40,0 г

Пептонна суміш гідролізату тваринних тканин та панкреатичного гідролізату казеїну (1:1) - 10,0 г

Агар - 15,0 г

Вода дистильована або очищена - 1000 мл

pH після стерилізації має становити $5,6 \pm 0,2$

Наведені вище поживні середовища стерилізують за температури 121 °С упродовж 15 хв.

Інгібувальна активність. Здебільшого вимірювання інгібуючої активності альфа-глюкозидази акарбозою базується на колориметричних методах. П-нітрофеніл- α -д-глюкопіранозид (пНДГ) - це синтетичний субстрат, який специфічно гідролізується альфа-глюкозидазою з утворенням продукту жовтого кольору (4-нітрофенол), який кількісно визначають при довжині хвилі 405 нм.

Вимірювання кількості 4-нітрофенолу, що утворюється з пНДГ у присутності або за відсутності інгібіторів, використовується для вимірювання інгібуючої активності.

Альфа-глюкозидазну інгібувальну активність визначали за стандартною методикою. Реакційну суміш у 96-лунковому планшеті, що містила 50 мкл фосфатного буфера (100 мМ, рН = 6,8), 10 мкл альфа-глюкозидази (1 Од/мл) і 20 мкл досліджуваного зразку в різних концентраціях (0,1-0,5 мг/мл) попередньо інкубують за температури 37°C упродовж 5 хв. Потім додається 20 мкл пНДГ як субстрат і далі інкубується при 37°C упродовж 20 хв. Реакція зупиняється додаванням 50 мкл Na₂ CO₃ (0,1 М). Поглинання вивільненого п-нітрофенолу вимірюється при довжині хвилі 405 нм. Стандартна акарбоза в різних концентраціях (0,1-0,5 мг/мл) включається у якості позитивного контролю. В якості негативного контролю використовується розчин, де замість досліджуваної речовини використовують очищену воду. Інгібувальну активність обчислюють за формулою:

$$\text{Інгібувальна активність (\%)} = (1 - A_s/A_c) \times 100$$

де, A_s - поглинання в присутності досліджуваної речовини, A_c - поглинання контролю.

Значення IC₅₀ показує концентрацію необхідну для інгібування 50% активності ферменту α-глюкозидази. Для акарбози значення IC₅₀ становлять 50-120 мкг/мл в залежності від джерела отримання α-глюкозидази.

Визначення вмісту води. Вода, що входить до складу фармацевтичних субстанцій, може бути зв'язаною фізично чи хімічно або незв'язаною та становити різний відсотковий вміст. Кулонометричний метод застосовують з метою кількісного визначення малих кількостей води (від 10 мкг до 10 мг) у фармацевтичних субстанціях. Метод особливо підходить для визначення води у різних вуглеводнях, простих етерах.

Якщо зразок є розчинною твердою речовиною, відповідну кількість, точно зважену, можна розчинити в безводному метанолі або інших відповідних розчинниках. Якщо зразок потрібно використовувати безпосередньо, не

розчиняючи у відповідному безводному розчиннику, відповідна кількість може бути введена в камеру безпосередньо.

У сухий пристрій додається точно виміряна кількість зразка, яка, за оцінками, повинна містити від 0,5 до 5 мг води, перемішується, і проводиться кулонометричне титрування до електрометричної кінцевої точки. Зчитується вміст води безпосередньо з дисплея приладу і обчислюється відсотковий вміст води, який присутній в речовині. Вміст води у зразку має становити не більше 4.0%.

РОЗДІЛ 8

ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

8.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік

У результаті процесів виділення та очищення фармацевтичної субстанції, з врахуванням втрат, за один виробничий цикл має бути отримано 169 г акарбози. Вміст акарбози в одній дозі складає 100 мг. Таким чином, розрахована кількість становитиме 1690 таблеток. Оскільки первинним пакуванням слугує блістер місткістю 10 таблеток, всього можна отримати 169 блістерів. Кількість виробничих серій препарату за рік дорівнює річній кількості циклів культивування біологічного агента та становить 7 серій. Отже, теоретично річна потужність виробництва таблеток акарбози становить 1680 г (1680 блістерів).

8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря)

Зони чистих приміщень та клас приміщення згідно з правилами GMP визначаються на основі технологічних циклів виробництва в цих приміщеннях.

Оскільки таблетки акарбози не будуть піддаватися стерилізаційним заходам, для виробництва таких лікарських засобів рекомендовано використання приміщень класів чистоти С та D. Для стадій очистки цільового продукту обираємо клас чистоти виробничих приміщень С. Це пов'язано з тим, що технологічні операції можуть бути визначені як критичні з точки зору можливого забруднення мікроорганізмами. Забруднення може бути спричинено проникненням мікроорганізмів в апарати. Для стадій виробництва твердих форм використовуються чисті зони класу D.[90]

Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	НОХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ				
Розроб.		Палько Л.О.			РОЗДІЛ 8.		Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.			ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ			85	128
Н. контр					ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ		Кафедра БТМ		
Консульт					ОДЕРЖАННЯ				
Зав. каф.		Стабніков В.П.			ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ				

Приміщення, де проходять стадії пакування, маркування та зберігання допускається не контролювати на вміст часток та мікроорганізмів у повітрі, адже виконується умова відсутності контакту відкритої продукції з навколишнім середовищем.

Підготовка персоналу. Забезпечення належного санітарно-гігієнічного стану персоналу є основою підготовки персоналу до технологічних процесів. Проводиться згідно стандартних операційних процедур підготовки та правил роботи персоналу підприємства. Персонал повинен чітко знати свої робочі обов'язки. На робочому місці проводиться інструктаж персоналу щодо виконання правил гігієни та дотримання санітарно-гігієнічних норм. Перед початком робочого процесу працівники обов'язково мають надягнути чистий санітарний одяг, закріпити волосся під хустинкою, зняти прикраси, ретельно вимити руки милом та провести їх дезінфекцію. Необхідно щоб одяг відповідав класу робочої зони та використовувався тільки в межах цієї зони. Тканина, з якої виготовлено одяг, повинна мінімально виділяти ворс, мати мінімальну пиломісткість і повітропроникність. Переодягатися і митися потрібно згідно письмових методик виробництва. Працівники повинні дотримуватися правил асептики при роботі. Також якщо працівник має відкриті рани на поверхні шкіри, хворіє інфекційними захворюваннями, він не допускається до роботи пов'язаної з контролем якості лікарських засобів, його виготовленням та зберіганням. При влаштуванні на роботу кожен співробітник повинен пройти медичний огляд та в подальшому має проходити регулярні обстеження стану здоров'я. [91]

Вибір дезінфекційних засобів. Основною метою санітарно-гігієнічних заходів на виробництві лікарських засобів згідно з правилами GMP є запобігання мікробної та перехресної контамінації лікарських засобів та забезпечення оптимальних умов праці й екологічної безпеки. Мікробіологічна безпека продукції, що виробляється, залежить від дотримання працівниками санітарних норм і правил, головним чином очистка та дезінфекція. Санітарна обробка виробничих приміщень і обладнання є невід'ємною частиною технологічного

процесу і здійснюється за принципами системи аналізу небезпечних факторів та контролю у критичних точках.

Основна мета дезінфекції – це запобігання або ліквідація процесу накопичення, розмноження і поширення збудників інфекційних захворювань та небажаних мікроорганізмів, шкідників на об'єктах навколишнього середовища.[92]

З метою забезпечення чистоти виробничих приміщень, миття та дезінфекція підлоги проводиться щодня, генеральне прибирання – раз на місяць. Миття обладнання відбувається перед кожним виробничим циклом. Для санітарної обробки об'єктів фармацевтичної промисловості допускається застосування дезінфікуючих та миючих засобів з дезінфікуючим ефектом, які в установленому порядку внесені в “Обліковий перелік дезінфекційних засобів в Україні”. Засобів для дезінфекції необхідно обирати декілька та інтервально застосовувати їх, щоб уникнути виникнення стійких до них штамів.

Біомой - це багатокomпонентний миючий засіб з дезінфікуючим ефектом, що містить алкілбензосульфونات натрія як основну діючу речовину. Препарат представляє собою сипучий порошок від білого до світло-жовтого кольору, допускається присутність ензимів темнішого кольору. Він розчиняється у воді не менше, ніж 30 г на 1 дм³. Водні розчини безбарвні і не завдають шкоди виробам з металу, скла, полімерних матеріалів, гуми та комбінованих матеріалів.

Робочі розчини Біомою мають виражені емульгуючі та миючі властивості, добре видаляють білково-жирові забруднення, легко змиваються та не залишають плівки на поверхнях. Препарат несумісний з катіонними ПАР.

Біомой відноситься до класу помірно небезпечних речовин (3 клас безпеки згідно з ГОСТ 12.1.007) при проглатуванні та до мало небезпечних речовин (4 клас безпеки згідно з ГОСТ 12.1.007) при контакті зі шкірою. У рекомендованих концентраціях не подразнює слизову оболонку очей. Для приготування робочого розчину використовується концентрація 0,5%, який готують у питній воді. Робочий розчин дозволено зберігати у щільно закритій

тарі протягом однієї доби або протягом 14 днів за умови дотримання термінів та умов зберігання. Використовується для обробки обладнання та поверхонь.[93]

Засіб дезінфікуючий "НьюДез актив" (діюча речовина: алкілдиметилбензиламоній хлорид - 10,5-15,0%; N-(3-амінопропіл) - Нодеципропан - 1,3-діамін, (Біс(3-амінопропіл)додециламін(триамін)-15,0 - 20,0%) . Засіб надзвичайно активний по відношенню до грампозитивних та грам негативних збудників, має туберкулоцидні, спороцидні і вірулоцидні властивості. Завдяки алкіламінам є екологічно безпечним та економічним у використанні. Робоча концентрація – 0,5% у формі водного розчину. Використовується для обробки обладнання та поверхонь.[94]

Для обробки обладнання, інвентарю, комунікацій використовується засіб «Дезактин». Дезактин – дезінфікуючий засіб, з широким спектром антимікробної дії (ТУ У 20.2-22920528-017:2013). Основна діюча речовина – дихлорантин. Препарат предствлений у вигляді порошку від білого до жовтуватого кольору та має слабкий запах хлору. Водні розчини Дезактину безбарвні та не пошкоджують метал, скло, кафель, гуму та комбіновані матеріали. Добре змивається, не залишаючи осаду на поверхнях. У сухому та концентрованому вигляді Дезактин може мати подразнювальну дію, проте цей ефект зникає при розведенні у робочому розчині. Він володіє широким спектром антимікробної дії, включаючи більшість патогенів, збудників інфекцій та вірусів. Для приготування робочого розчину Дезактину використовується концентрація 0,5%. Робочий розчин готують у тарі будь-якого матеріалу, крім оцинкованого заліза, шляхом розчинення у питній воді. Робочий розчин зберігається протягом 3-х днів у щільно закритій тарі. [95]

Для гігієнічної обробки рук персоналу на фармацевтичному виробництві використовується «Скінман Софт» – трикомпонентний антисептик, який забезпечує надійну та синергічну дію всіх компонентів при невисокій концентрації спирту 60%, що забезпечує м'яку дію.[96] На заміну обираємо засіб дезінфекційний «Фамідез Дезодерм Лонг» (діючі речовини: мас.,%: ізопропанол- 65,0; 1,3-бутандіол- 0,114; дидецилметилполі(оксиетил)амонію пропіанат-0,1).

Даний засіб сумісний з усіма миючими засобами, не містить альдегідів, фенолів, амонієвих сполук. [97]

Підготовка вентиляційного повітря. Виробничі приміщення фармацевтичних підприємств обладнують системами турбулентної і ламінарної вентиляції. У виробничі приміщення класів чистоти С і D подається неоднапрямлений повітряний потік.

Для підготовки вентиляційного повітря повітряний забірник розташовується в зоні, яка максимально віддалена від місць утворення промислових викидів та джерел забруднення висотою на 15 м вище рівня даху.

Схема підготовки повітря включає установку для підготовки повітря шляхом трьохступеневого очищення через фільтри. Для виробничих приміщень класу чистоти С на першому рівні мають бути встановлені фільтри не нижче класу G 4, на другому - не нижче F 7, на третьому – не нижче H12. Для виробничих приміщеннях D класу чистоти на першому рівні повинні бути встановлені фільтри не нижче класу G 3, на другому - не нижче класу F6, на третьому - не нижче класу H 11. Обираємо для першого рівня фільтри класу G4, для другого – F8, для третього – H13.

На кожному рівні очищення слід передбачити штуцери для відбору проб повітря з метою визначення концентрації механічних часток. Підтримка необхідної температури здійснюється шляхом нагрівання/охолодження повітря, що проходить через теплообмінники, в яких циркулює технічна пара/охолоджений гліколь. Температуру слід підтримувати на рівні (21 ± 2) °C взимку і (23 ± 2) °C влітку. Вологість регулюється за допомогою парозволожувача та має бути в межах 30-50%. Швидкість повітрообміну регулюється шляхом зміни частоти обертання вентиляторів.

Чисті приміщення класів С і D потребують постійного моніторингу та контролю параметрів якості повітря. Це включає моніторинг рівня часток, температури, вологості та різниці тиску між чистим приміщенням і прилеглими зонами. [98]

8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Обрані первинні пакувальні матеріали відповідають регуляторним стандартам щодо фармацевтичного пакування і вважаються чистими та придатними для використання, додаткова підготовка упаковки необов'язкова. Оскільки таблетки акарбози не виробляються стерильними, додаткових стадій підготовки первинної упаковки (блістерів) не передбачається.

8.4. Обґрунтування вибору підготовки води

При технологічному процесі виготовлення ЛЗ використовують питну воду, очищену воду, високоочищену, воду для ін'єкцій, якщо це потрібно, та також можуть використовувати пар.

Вода питна може бути використана, наприклад, у процесах очищення обладнання фармацевтичних виробництв та доферментаційних процесах, якщо відсутні технічні вимоги щодо застосування більш очищеної води. Вода питна є загальноприйнятим вихідним джерелом для одержання води фармакопейної якості. Використовується вода питна відповідно до державних санітарних правил і норм ДСанПіН 2.2.4-171-10, згідно з якими встановлюються гігієнічні норми.[99] Вимоги ДСанПіНу є обов'язковими для всіх підприємств та організацій різної форми власності. Безпечність та якість питної води за мікробіологічними показниками повинна відповідати таким нормам:

Таблиця 2.1

Мікробіологічні показники питної води

№ з/п	Найменування показників	Одиниці виміру	Нормативи для питної води
			водопровідної, з пунктів розливу
1	2	3	4
1	Загальне мікробне число при t 37° С - 24 год	КУО/см ³	<100 <50)**
2	Загальне мікробне число при t 22° С - 72 год	КУО/см ³	не визначається

3	Загальні коліформи	КУО/100 см ³	відсутність
4	E.coli	КУО/100 см ³	відсутність
5	Ентерококи	КУО/100 см ³	відсутність
6	Синьогнійна паличка (Pseudomonas aeruginosa)	КУО/100 см ³	не визначається
7	Патогенні ентеробактерії	наявність в 1 дм ³	відсутність
8	Коліфаги	БУО/дм ³	відсутність
9	Ентеровіруси, реовіруси, аденовіруси, вірус гепатиту А та інші	наявність в 10 дм ³	відсутність

Вода очищена використовується для виготовлення лікарських засобів, крім тих, що мають бути стерильними й апірогенними, якщо немає інших розпоряджень. Воду очищену одержують з питної води. Зберігають воду очищену в ємностях із нержавіючої сталі або інших інертних матеріалів та повітряним фільтром 0,2 мкм. Розподіляють по трубопроводах за допомогою насосів з нержавіючої сталі.

Вода очищена згідно з Настановою СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації» [100], повинна контролюватися та відповідати таким показникам:

Таблиця 2.2

Показники якості очищеної води

Показник	Нормативи
Концентрація мікроорганізмів	<100 КУО/мл
Вміст загального органічного вуглецю	< 0,5 мг/л
Електропровідність	4,3 мкСм/см (за 20 °С) 5,1 мкСм/см (за 25 °С)
Нітрати	<0,2 мг/л

Важкі метали	<0,1 мг/л
Ендотоксини	<0.25 МО/мл (якщо субстанція призначена для виробництва розчинів для діалізу)

Воду очищену отримують з води питної шляхом дистиляції, іонним обміном, зворотним осмосом або іншим придатним для цього способом.

Під час технологічного процесу вода використовується для миття та дезінфекції обладнання, на стадіях виділення та очищення. Для виробництва таблеток акарбози, як нестерильного препарату, згідно з настановами доцільно використовувати воду очищену на стадіях очищення субстанції. Джерелом водопостачання може слугувати власна свердловина на території підприємства або ж з системи міського водопроводу. Перед початком очищення вода, а також вся сировина, яка використовується під час водопідготовки, проходить контроль якості згідно специфікації.

Виробництво води очищеної проводиться за допомогою двоступеневого зворотнього осмосу. Для цього процесу доцільніше використовувати установку Eurowater CU: PHARMA, що вже включає всі необхідні етапи процесу очищення. Попереднє очищення складається з гравійного фільтра і пом'якшувача. Далі проходить процес зворотнього осмосу, який дозволяє вилучити всі солі, мікроорганізми та пірогени. Блок EDI (електродеіонізація), що використовується після системи зворотного осмосу, слугує для доочищення демінералізованої води, щоб отримати низький рівень електропровідності.[101]

8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

Загалом, проаналізувавши ряд патентів, які стосуються технології виробництва таблеток з акарбозою у ролі діючої речовини, пропонуються класичні прийоми для виготовлення таблеток – виробництво прямим пресуванням, суха грануляція.[102,103] Доволі новим підходом є виготовлення пелет методом екструзійної сферонізації.[104]

Метод компактування, як один з різновидів сухого гранулювання, користується підвищеним інтересом. Компактування найчастіше використовується для фізично або хімічно чутливих до вологи лікарських засобів, адже не потребує зв'язувальних рідин для грануляції. Сухе гранулювання порівняно з вологим спрощує процес виробництва та характеризується низькими експлуатаційними витратами.[105]

Технологічний процес отримання таблеток акарбози компактуванням включає наступні стадії:

- Підготовка сировини (зважування та просіювання).
- Змішування маси для компактування
- Ущільнення маси (суха грануляція)
- Опудрювання
- Пресування таблеток
- Фасування таблеток у блістери
- Пакування.

Просіювання. Загальноживаним обладнанням для просіювання фармацевтичної сировини вважають вібраційні сита, основним елементом якого є вібраційний двигун, що генерує коливання, тим самим змушуючи матеріал проходити через ситову сітку. Це обладнання допомагає розділити частинки залежно від розміру. Роторні просіювачі оснащені лопатевим механізмом, що обертаються всередині циліндричного сита. Хитні просіювачі у порівнянні з роторними володіють більшою продуктивністю, та їхнім недоліком є швидкий вихід з ладу опорних стійок. Порівнявши просіювачі, найкращим вибором буде вібраційне сито.

Змішування. Для того, щоб отримати таблетмасу, яка зазвичай складається з декількох порошкоподібних компонентів, необхідно ретельно змішати їх між собою. Цей процес гарантує, що окремі компоненти рівномірно розподіляються в результаті чого утворюється однорідна суміш. Гомогенність маси є головним показником для забезпечення відповідності суміші стандартам охорони здоров'я до рівномірного розподілу в кінцевій лікарській формі.

В фармацевтичній промисловості використовують змішувачі, які можна класифікувати так:

- за режимом процесу: періодичні і безперервні;
- за конструкцією: лопатеві, барабанні та інші;
- за способом впливу: механічні, гравітаційні, відцентрові;
- ручне або автоматичне розвантаження.[106]

Біновий змішувач AGR-LIFT призначений для змішування і гомогенізації сухих порошків. Зручність використання даного типу змішувачів полягає у можливості подальшого транспортування суміші порошків у бінах. Змішувач забезпечує ефективне перемішування за рахунок додаткового кута нахилу в 15° відносно осі обертання. Оснащений електромеханічною системою блокування, яка гарантує горизонтальне положення платформи як під час завантаження, так і по завершенню циклу роботи.[107]

Ущільнення. Для даного процесу найдоцільніше використовувати обладнання комбінованого типу, що дозволить зменшити тривалість технологічного процесу та додаткові витрати на установаження та обслуговування апаратів. Тому, проаналізувавши ринок обираємо роликаний компактний ущільнювач WP 200 Pharma, пропускної здатності безперервної роботи - 10-250 кг/год. WP 200 Pharma стандартно поставляється з системою Combi-Vent-Feeder (комбінований вентиляційний привід подачі). Ця система подачі сприяє ефективній роботі машини. Завдяки спеціальному підводу потоків газу, більша кількість матеріалу може бути подана в роликаний люфт.

Опудрювання. Опудрювання буде відбуватися у біновому змішувачі, в який додається попередньо підготовлений опудрювач (магнію стеарат).

Таблетування. Таблеткові преси або машини для пресування таблеток, класифікуються на основі різних факторів, таких як механізм роботи, конструктивні особливості. За принципом роботи розрізняють ротаційні та ударні таблеткові машини. Ротаційні таблетпреси мають декілька пуансонів та матриць, розташованих на поворотній револьверній башті. Тиск у таких

таблеткових пресах наростає поступово, що забезпечує м'яке і рівномірне пресування. Характеризуються високою продуктивністю та придатні для масштабних виробництв. В ударних таблетпресах використовується один пуансон для пресування. Даний тип підходить для дрібносерійного виробництва або лабораторного використання. Ударні машини володіють доволі суттєвим недоліком – нерівномірний розподіл тиску під час пресування, що може призвести до більшого ущільнення верхньої частини таблетки.

Отже, проаналізувавши переваги та недоліки обираємо ротаційний таблетпрес. Ротаційний таблетпрес Ruida Model ZP-17D підходить для використання у мало серійному виробництві, розрахована максимальна продуктивність до 37 000 таблеток на годину, може виробляти таблетки різного розміру та форми. [108]

Фасування. Так як для даного виробництва обране блістерне первинне пакування з полівініліденхлориду та алюмінієвого покриття (напівжорсткий тип фасування), проаналізувавши ринок обладнання для фасування, обираємо фасувальну машину Pharmaline 220 для блістерної упаковки, яка підходить для різного дрібно-серійного виробництва. Продуктивність становить до 3600 шт/год. Машина оснащена ділянкою формування блістерів за допомогою тиснення, вузлом подачі продукції та перфорації. Також наявна ділянка термічного тиснення та вузол для штампування, пристрій для регулювання форми блістера, його глибини. Перед проведенням фасування встановлюють штамп для нанесення маркування на блістер - номер серії і дату закінчення терміну придатності.

Пакування. На даному етапі здійснюємо маркування та пакування готової продукції у вторинну упаковку – пачки з картону хром-ерзац. На кожну коробку наноситься маркування відповідною інформацією. Упаковують по 2 блістери № 10 з таблетками в пачку разом з однією інструкцією по медичному застосуванню.

Обираємо картонажну пакувальну машину Vergami AS70. Продуктивність даної машини становить до 70 коробок за хвилину. Продукт, що надходить з

ланцюга подачі, вставляється за допомогою штовхача, який розміщений з боку оператора. Після операції закриття бічні ремені вивантажують коробку та інструкцію. Сенсорна панель управління з інтерфейсом оператора відображає всі функції машини та її стан (повідомлення про несправності, сигнали тривоги). Швидкість встановлюється з панелі управління і дозволяє налаштувати оптимальну швидкість виробництва. Пакування картонних пачок у гофрокороб здійснюється вручну обслуговуючим персоналом. Після даної стадії відбувається відвантаження готової продукції у зону карантинного зберігання.

РОЗДІЛ 9. МАТБАЛАНС НА СЕРІЮ ЛЗ

Таблетка акарбози, загальною масою 1 г має наступний склад:

- Акарбоза – 100 мг (діюча речовина)
- Крохмаль кукурудзяний – 670 мг (наповнювач)
- Целюлоза мікрокристалічна – 100 мг (зв'язувач)
- Магнію стеарат – 30 мг (обпудрювач)
- Аеросил – 100 мг (мінеральний наповнювач, стабілізатор)

З попередніх розрахунків кінцева кількість субстанції акарбози становить 1680 г. Таким чином, загальна кількість допоміжних речовин буде становити: крохмаль – 11 256 г; целюлоза мікрокристалічна – 1680 г, магнію стеарат – 504 г, аеросил- 1680 г. Загальна кількість становить 16 800 г.

Отже, отримана кількість таблеток масою 1 г становить 168000. Згідно попередніх розрахунків кількість серій становить 7 серій на рік. Кількість таблеток на одну серію становить:

$$16\ 800 / 7 = 2400 \text{ таб/серію.}$$

Втрати сировини на стадіях зважування становлять 0,3%, просіювання – 0,5%, змішування – 0,2%, таблетування – 1%, фасування – 0,2 %.

Надійшло		Використано	
Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість, г	Назва сировини, матеріалів та напівпродуктів	Кількість, г
1	2	3	4
Зважування сировини, г			
Акарбоза	240	Акарбоза	239,8

НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ				
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>
<i>Розроб.</i>	<i>Палько Л.О.</i>			
<i>Керівник</i>	<i>Стабніков В.П.</i>			
<i>Н. контр</i>				
<i>Консульт</i>				
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>			
РОЗДІЛ 9.			<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>
МАТБАЛАНС НА СЕРІЮ			<i>Аркушів</i>	
ЛЗ			97	128
Кафедра БТМ				

Крохмаль кукурудзяний	1608	Крохмаль кукурудзяний	1605
Целюлоза мікрористалічна	240	Целюлоза мікрористалічна	239
Магнію стеарат	72	Магнію стеарат	70
Аеросил	240	Аеросил	239
Всього:	2400	<u>Втрати (0,3%)</u>	<u>7,2</u>
		Всього:	2392,8
Просіювання, г			
Крохмаль кукурудзяний	1605	Крохмаль кукурудзяний	1598,8
Целюлоза мікрористалічна	239	Целюлоза мікрористалічна	238
Магнію стеарат	70	Магнію стеарат	68
Аеросил	239	Аеросил	237,5
Всього:	2153	<u>Втрати (0,5%)</u>	<u>10,7</u>
		Всього:	2142,3
Змішування компонентів			
Акарбоза	239,8		2377,4

Крохмаль кукурудзяний	1598,8	Маса для таблетування	
Целюлоза мікрокристалічна	238		
Магнію стеарат	68		
Аеросил	237,5		
Всього:	2382,1	<u>Втрати (0,2%)</u>	4,7
		Всього:	2382,1
Таблетування			
Маса для таблетування	2377,1	Таблетки	2353,4
Всього:	2377,1	<u>Втрати (1%)</u>	23,7
		Всього:	
Фасування			
Таблетки	2353,4	Таблетки	2353
Матеріали: контейнери	240 уп.	Матеріали: контейнери	239 уп.
Всього:	240 уп.	<u>Втрати (0,2%)</u>	0,48
		Всього:	239 уп.

РОЗДІЛ 10. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання ділянки стадій виготовлення ЛЗ

Таблиця 10.1

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
С-22	Вібраційне сито	1	Вібраційне сито з діаметром просіювального полотна 900 мм. Виконаний з нержавіючої сталі AISI316, 321. Виробник «ПромСнабКомплект» (Україна).[1]
БЗ-23 БЗ-25	Біновий змішувач	2	Біновий змішувач обсягом 5 л, макс. робочий об'єм 75%. Виготовлений з нержавіючої сталі AISI 316L. Виробник «Agierre» (Італія). [2]

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ					
<i>Зм</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ документа</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 10. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ					
<i>Розроб.</i>	<i>Палько Л.О.</i>							<i>Літера</i>	<i>Аркуш</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Керівник</i>	<i>Стабніков В.П.</i>								100	128
<i>Н. контр</i>										100
<i>Консульт</i>								Кафедра БТМ		
<i>Зав. каф.</i>	<i>Стабніков В.П.</i>									

РКУ-24	Роликовий компактор ущільнювач	1	Роликовий компактор ущільнювач WP 200 Pharma, пропускна здатність безперервної роботи - 10-250 кг/год. Максимальна сила стиснення - 18.4 кН/см ² . Виробник «Матіріалс Лаб» (Україна).[3]
ВТ-26	Вакуумний транспортер	1	Вакуумний транспортер FILTERVAC. Пристрій виконано з нержавіючої сталі AISI 304 . Продуктивність регульована. Виробник «Agierre» (Італія).[4]
РТ-27	Ротаційний таблетпрес	1	Ротаційний таблетпрес Ruida Model ZP-17D. Виробнича потужність до 37800 таб/год. Швидкість обертання 5- 12об/хв. Виробник «Ruida» (Китай).[5]
БМ-28	Блістерна машина	1	Блістерна машина Pharmaline 220 продуктивністю до 3600 шт/год. Глибина блістера - 25 мм.

			Виробник «Eridan Plus» (Україна).[6]
КПМ-29	Картонажна пакувальна машина	1	Картонажна пакувальна машина Bergami AS70. Продуктивність даної машини становить до 70 коробок. Виробник «Bergami» (Італія). [7]

1. <https://www.promsnabkomplekt.com.ua/product/farmaceuticheskoe-vibrosito/>
2. <https://www.agierre.eu/public/index.php?node=43&subpg=catalogo-prodotti-view&idntree=12&idprod=23&category=-&product=-/>
3. <https://materials-lab.com.ua/Rolykovyj-kompaktor-ushilnyuvach-WP-200-Pharma/>
4. <https://www.agierre.eu/public/index.php?node=43&subpg=catalogo-prodotti-view&idntree=1&idprod=2&idlang=uk>.
5. <https://ruidapacking.com/product/tablet-press-machine-small//>
6. <https://130436-ua.all.biz/uk/mashyny-dlya-vpakuvannya-v-blistery-pharmaline-220-g1288782/>
7. <https://www.bergamisrl.com/machines/horizontal-cartoners/as-70/>

РОЗДІЛ 11. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛЗ

ТП 1 Підготовка сировини

ТП 1.1 Зважування допоміжних речовин та акарбози

Перед початком процесу необхідно розрахувати кількості сировини на серію препарату. На аналітичних вагах в боксі біологічної безпеки зважуються в окремі марковані пакети з поліетилену акарбоза у кількості 169 г, целюлоза мікрокристалічна – 169 г, крохмаль кукурудзяний – 1133 г, аеросил – 169 г.

ТП 1.2 Зважування опудрюючої речовини

На аналітичних вагах в боксі біологічної безпеки зважують магнію стеарат у кількості 50 г, в окремий промаркований пакет, який потім передають на етап опудрення (ТП 2.3).

ТП 1.3 Просіювання речовин на вібраційному ситі

Зважені компоненти подають на вібраційне сито С-22. Розмір частинок компонентів має становити 10-20 мкм. Всі частки, що більші за потрібні розміри повинні бути направлені на повторний етап подрібнення. Просіяні компоненти, за допомогою патрубків вібраційного сита, завантажують у бін та передають на наступний етап.

ТП 2 Приготування маси для таблетування

ТП 2.1 Змішування компонентів

Бін з компонентами встановлюють у змішувач БЗ-23. Проводять процес змішування зі швидкістю перемішування 100-120 об\хв.

					НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ			
Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата				
Розроб.		Палько Л.О.			РОЗДІЛ 11. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛЗ	Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.					103	128
Н. контр								
Консульт								
Зав. каф.		Стабніков В.П.					Кафедра БТМ ¹⁰³	

ТП 2.2 Компактування

У роликовий компактор-ущільнювач РКУ-24 завантажується сировина з біна (ТП 2.1) через роликовий люфт. Провести компактування згідно інструкцій, одержаний гранулят розміром 2-3 мм завантажується в бін та подається на стадію опудрення.

ТП 2.3 Опудрення грануляту

У бін з отриманими на попередньому етапі гранулами додають підготовлений магнію стеарат у кількості 50 г та проводять опудрення гранул за допомогою змішувача БЗ-25 . Швидкість перемішування змішувача – 100-120 об\хв.

ТП 3 Таблетування

Одержану масу подають вакуумним транспортером ВТ-26 на ротаційний таблетковий прес РТ-27 та проводять процес відповідно до встановлених технологічних параметрів. Швидкість обертання становить 5-7 об\хв.

ТП 4 Фасування, маркування та пакування

ТП 4.1 Фасування таблеток у блістерну упаковку

Отримані таблетки з чистої тари надходять у вхідний бункер блістерної машини БМ-28. Фасування проводиться у блістери по 10 таблеток. Перед початком фасування необхідно встановити штамп з номером серії та терміном придатності на маркувальному вузлі блістерної машини.

ТП 4.2 Пакування блістерів у пачки та їх маркування

Пакування блістерів у пачки з картону, з відповідним маркуванням та інструкцією до застосування відбувається на картонажній пакувальній машині КПМ-29. Продуктивність - 70 коробок за год по 2 блістерів у пачці з листком-вкладишем. Під час процесу пакування має контролюватися цілісність пачки та чіткість нанесення маркування, кількість блістерів, наявність листка-вкладиша.

ТП 4.3 Складання пачок у групову упаковку

Готові картонні пачки вкладаються вручну персоналом у гофрокороб по 20 коробок у одній, заклеюється та прикріплюється етикетку. Потім групова упаковка транспортується в приміщення карантинного зберігання продукції.

РОЗДІЛ 12. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД

Дана аналітично-нормативна документація поширюється на лікарський препарат акарбози, який являє собою таблетки, що містить акарбозу як діючу речовину. Розміщену нижче інформацію наведено згідно з характеристиками лікарського препарату Glucobay®.[109]

Основні фізико-хімічні властивості: таблетки білого або жовтуватого кольору; На таблетках 100 мг – розподільча риска.

склад: 1 таблетка містить акарбози - 100 мг;

допоміжні речовини: аеросил (кремнію діоксид колоїдний безводний), магнію стеарат, крохмаль кукурудзяний, целюлоза мікрокристалічна.

Форма випуску. Таблетки.

Фармакологічні властивості. Даний лікарський препарат належить до засобів, які знижують рівень цукру в крові. Механізм дії препарату полягає в пригніченні альфа-глюкозидаз, що знаходяться в кишківнику, які беруть участь у розщепленні ди-, оліго- і полісахаридів. Препарат інгібує засвоєння вуглеводів і спричиняє зменшення поглинання глюкози із сахаридів. Цим обумовлена специфічна дія акарбози після вживання їжі - регулюючи поглинання цукру із кишечника, даний препарат зменшує добові коливання рівня цукру в крові та сприяє його зниженню.

Фармакокінетика. Приблизно 35% введеної дози акарбози поглинається у формі метаболітів, і менше 2% - у активній формі. Метаболізація відбувається в шлунково-кишковому тракті, переважно за участю кишкових бактерій та частково - за допомогою травних ферментів, у результаті чого утворюється близько тринадцяти різних сполук у вигляді сульфатних, метилових та глюкоронових кон'югатів. Після прийому спостерігається два піки максимальної концентрації акарбози в плазмі крові: перший, у середньому, $52,2 \pm 15,7$ мкг/л через $1,1 \pm 0,3$ години, і другий - $586,3 \pm 282,7$ мкг/л через $20,7 \pm 5,2$ години.

Зм	Арк.	№ документа	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 02.02.14 КР ПЗ		
Розроб.		Палько Л.О.			Літера	Аркуш	Аркушів
Керівник		Стабніков В.П.				106	128
Н. контр					Кафедра БТМ ¹⁰⁶		
Консульт							
Зав. каф.		Стабніков В.П.					

Поява другого піку пов'язана з всмоктуванням продуктів бактеріального розпаду з глибоких відділів тонкого кишечника. У пацієнтів з нирковою недостатністю (кліренс креатиніну < 25 мл/хв/1,73 кв. м) значення C_{max} збільшується в 5 разів, а у людей похилого віку - в 1,5 раза. Біодоступність становить 1-2%. Оцінений об'єм розподілу складає 0,32 л на кг маси тіла.

Виведення. Період напіввиведення для фази розподілу і виведення - $3,7 \pm 2,7$ год і $9,6 \pm 4,4$ год відповідно; 51% активної речовини виводиться через кишечник; 1, 7% в незміненому вигляді та у вигляді активного метаболіту і 34% у вигляді метаболітів.

Спосіб застосування та дози. Оптимальна доза препарату встановлюється індивідуально для кожного пацієнта. Призначають тільки дорослим. Лікування починають з дози 50 мг 3 рази на добу. Згодом, за потреби, доза може бути збільшена до 100 мг 3 рази на добу. В деяких випадках за рекомендаціями лікаря доза може становити 200 мг 3 рази на добу та вище. Таблетки приймають цілими, не розжовуючи, з невеликою кількістю рідини, безпосередньо перед їжею або розжовують з першою порцією їжі. У людей похилого віку і хворих з печінковою недостатністю не потрібна зміна схеми лікування. Тривалість лікування препаратом не обмежена.

Побічна дія.

З боку шлунково-кишкового тракту та печінки: часто - метеоризм, біль в центральній частині живота, діарея, рідко – нудота.

Поодинокі випадки: алергічні реакції шкіри (висип, еритема, екзантема, кропив'янка), набряки, непрохідність кишечника, жовтяниця або гепатит.

Лабораторні показники: в окремих випадках (зокрема, при призначенні 150-300 мг на добу) відзначається підвищення активності печінкових трансаміназ, яке повністю минає після відміни прийому.

Протипоказання. Препарат протипоказаний при таких захворюваннях:

-хронічні захворювання кишечника з вираженими порушеннями травлення та всмоктування;

- стани, що супроводжуються метеоризмом (синдром Ремхельда, великі грижі, стеноз і виразкові ураження кишечника).

Препарат має протипоказання для застосування у осіб до 18 років, під час вагітності та годування груддю, а також у осіб з індивідуальною підвищеною чутливістю до акарбози та/або допоміжних речовин. Пацієнтам із важкою нирковою недостатністю (кліренс креатиніну < 25 мл/хв) приймати препарат не рекомендується.

Необхідно бути обережним при застосуванні препарату у разі пропасних станів, інфекційних захворювань, травм та хірургічних втручань.

Особливості застосування. Рекомендується контролювати рівень "печінкових" ферментів, оскільки можливе безсимптомне підвищення їх рівня під час лікування. Зазвичай, після скасування прийому препарату, активність цих ферментів нормалізується.

Дотримання призначеної лікарем дієти є обов'язковим. Якщо дієта не дотримується, можливі побічні реакції з боку шлунково-кишкового тракту. При виражених порушеннях функції кишечника може бути потрібне тимчасове або тривале зменшення дози препарату.

Препарат має гіпоглікемічну дію, але не спричиняє гіпоглікемію у пацієнтів, яким для лікування призначено тільки дієта без цукрознижуючих препаратів. Якщо препарат призначають разом з інсуліном або препаратами, що містять сульфонілсечовину або метформін, може розвинути гіпоглікемія, що вимагає зниження їх дози.

Під час лікування препаратом цукор у їжі повільніше розщеплюється, тому він не є придатним для швидкої корекції гострої гіпоглікемії. У цьому випадку рекомендується використовувати глюкозу. Крім того, під час прийому препарату може спричинити кишкові розлади та діарею при вживанні продуктів, що містять цукор.

Взаємодія з іншими лікарськими засобами. При одночасному застосуванні з препаратами сульфонілсечовини, метформіном або інсуліном може відбутися зниження концентрації глюкози в крові. У разі виникнення

гіпоглікемії необхідно скоригувати дозу застосовуваних препаратів. Можливе послаблення дії глюкобаю при застосуванні холестираміну, кишкових сорбентів і ферментних препаратів. Диметикон/симетикон не мають такого впливу. У окремих випадках акарбоза може вплинути на біодоступність дигоксину, що вимагає корекції дози останнього.

Умови та термін зберігання. Зберігати при температурі не вище 30°C, в захищеному від світла сухому місці. Термін придатності - 5 років. Зберігати у місцях, недоступних для дітей.

СПЕЦИФІКАЦІЯ

на препарат

Таблиця 6.1

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
Опис	таблетки білого або жовтуватого кольору; Наявна розподільча риска.	За п. 1, візуально
Середня маса таблеток	Відхилення у масі окремих таблеток допускається у межах $\pm 5\%$.	За п. 2, згідно з ДФУ 2.9.5
Розпадання	Усі зразки повинні повністю розпадатися, про що судять за відсутністю частинок на сітці диску. Якщо 1 або 2 зразки не розпались, повторюють випробування на зразках, що залишилися. Не менше, ніж 16 із 18 зразків повинні повністю розпастися.	За п. 3, згідно з ДФУ 2.9.1
Розчинення	Серія вважається задовільною при розчиненні у воді за 45 хв при режимі перемішування 75 rpm не менше 80% діючої речовини від вмісту у ЛФ.	За п. 4, згідно з ДФУ 2.9.3
Кількісне визначення	Вміст акарбози має перебувати в межах від 90	За п. 5., згідно з м. USP «Acarbose tablets»

	% до 110 % від номінального	
Ідентифікація	Спектрофотоскопічний ідентифікаційний тест - ІЧ максимуми мають повністю збігатися з ІЧ максимумами для стандартного зразка; Час утримання: відповідає часу утримання основного піка розчину порівняння, що використовується у випробуванні	За п. 6, згідно з м. USP «Acarbose tablets»
Супровідні домішки	<i>домішка D^a</i> : площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1,2 %); <i>домішка B^b</i> : площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (0,5 %); <i>домішка A^c</i> : площа піка не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (1,6 %); <i>домішка C^d</i> : площа піка не має перевищувати площу основного піка на	За п. 7, згідно з м. USP «Acarbose tablets»

	<p>хроматограмі розчину порівняння (1 %);</p> <p><i>неспецифіковані домішки:</i> площа піка кожної домішки не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (0,2%):</p> <p><i>сума домішок:</i> сума площ піків усіх домішок не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (3 %).</p>	
Мікробіологічна чистота	<p>Допускається загальна кількість аеробних мікробів не більше 10^3 КУО/г, а загальна кількість комбінованих дріжджів і пліснявих грибів не більше 10^2 КУО/г.</p>	За п. 8, згідно з м. USP «Acarbose tablets»
Зберігання	<p>У сухому, захищеному від світла місці за температури нижче 30 °С. Зберігати у недоступному для дітей місці.</p>	

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

- 1. Опис.** Візуально оглядають 20 таблеток та кладуть на білий лист паперу. Розглядають їх зовнішній вигляд при денному освітленні неозброєним оком. Таблетки мають бути білого або жовтуватого кольору. На таблетках 100 мг – розподільча риска.
- 2. Середня маса таблеток.** Середню масу таблеток визначають зважуванням 20 таблеток із точністю до 0,001 г. Відхилення у масі окремих таблеток допускається у межах $\pm 5\%$. Тільки 2 таблетки можуть мати відхилення від середньої маси, що перевищують вказані межі, але не більше, ніж удвічі.
- 3. Розпадання.** Для визначення розпадання відбирають 18 зразків та поміщують у лабораторний ідентифікатор процесу розпадання. Вмикають прилад і проводять визначення протягом часу, описаного у статті. Усі зразки повинні повністю розпадатися, про що судять за відсутністю частинок. Якщо 1 або 2 зразки не розпались, повторюють випробування на зразках, що залишилися. Не менше, ніж 16 із 18 зразків повинні повністю розпастися.
- 4. Розчинення.** Для оцінки розчинності застосовують прилад типу «Обертальна корзинка». У процесі визначення підтримують температуру $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Випробуваний зразок поміщують в корзинку, яку опускають у середовище розчинення так, щоб відстань до дна посудини була (20 ± 2) мм. Посудину закривають кришкою, потім корзинку приводять в обертання 75 грт. Через 30 хв відбирають пробу розчину, яку фільтрують через фільтр «Міліпор» із діаметром пор 0,45 мкм. У фільтраті проводять кількісне визначення акарбози хроматографічним методом. Серія вважається задовільною при розчиненні у буфері за 30 хв при режимі обертання 75 грт не менше 80% діючої речовини від вмісту у ЛФ.
- 5. Кількісне визначення.** Визначення здійснюють методом високоефективної рідинної хроматографії. Необхідні для аналізу складові:

Буфер: 0,6 мг/мл одноосновного фосфату калію та 0,35 мг/мл двоосновного фосфату натрію у воді.

Рухома фаза: Ацетонітрил і буфер (75:25)

Розчин для придатності системи: 20 мг/мл акарбози USP

Стандартний розчин: 10 мг/мл USP Acarbose

Розчин для зразка: 10 мг/мл акарбози у воді

Хроматографічна система: режим РХ; детектор: УФ 210 нм; колонка: 4,0 мм × 25 см; температура колонки: 35°; швидкість потоку: 2 мл/хв; об'єм ін'єкції: 10 мкл.

Процес здійснюють так: окремо інжектують 10 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння в колонку, записують хроматограми, визначають час утримання, обчислюють частку акарбози за формулою:

$$\text{Вміст} = (r_u/r_s) * (C_s/C_u) * 100 ,$$

де r_u – час утримання для випробовуваного зразка, r_s – час утримання для стандартного зразка, C_u – концентрація акарбози у випробовуваному розчині (мг/мл), C_s – концентрація акарбози у стандартному розчині (мг/мл). Вміст акарбози повинен перебувати в межах від 90,0 % до 110,0 %.

6. Ідентифікація. Інфрачервоний спектр зразка та відповідного стандартного зразка визначати в діапазоні від 3500 см⁻¹ до 1000 см⁻¹. Інфрачервоний спектр зразка має повністю збігатися зі спектром стандартного зразка. Ідентифікація за часом утримання - час утримання розчину зразка має відповідати часу утримання основного піка стандартного розчину, що використовується у випробуванні Кількісне визначення (п. 5).

7. Супровідні домішки. Визначається з допомогою високоефективної рідинної хроматографії.

Стандартний розчин 1: 0,2 мг/мл розчин акарбози у воді, піпетуючи 1,0 мл стандартного розчину з аналізу в мірну колбу на 50 мл. Розвести водою до об'єму.

Розчин для визначення чутливості: 0,02 мг/мл розчин акарбози у воді, піпетуючи 10,0 мл стандартного розчину 1 у мірну колбу на 100 мл. Розвести водою до об'єму.

Зразки: Розчин придатності системи, Стандартний розчин 1, та розчин для визначення чутливості.

Режим роботи хроматографічної системи аналогічний до пункту 5.

Нормування:

- домішка Da: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1,2 %);
- домішка Bb: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (0,5 %);
- домішка Ac: площа піка не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (1,6 %);
- домішка Cd: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (1 %);
- неспецифіковані домішки: площа піка кожної домішки не має перевищувати площу піка акарбози на хроматограмі розчину порівняння (0,2%);
- сума домішок: сума площ піків усіх домішок не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (3 %).

8. Мікробіологічна чистота. Допускається загальна кількість аеробних мікробів не більше 10^3 КУО/г, а загальна кількість комбінованих дріжджів і пліснявих грибів не більше 10^2 КУО/г.

Для аналізу відбирають 10 г субстанції після чого додають 100 мл фосфатного буферу (рН 7,2), перемішують до розчинення, тим самим отримуючи розведення 1:10. З приготованого розчину готують розведення 1:100, 1:1000, 1:10000 і 1:100000 (1 мл попереднього розведення + 9 мл води Р). Для аналізу загального числа аеробних мікроорганізмів і загального числа дріжджів і цвілевих грибів використовують останні три розведення.

Визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і загального числа дріжджів і цвілевих грибів проходить за наступної процедури: по 1 мл з кожного розведення висівають на чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром (для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів) і агаром Сабуро з декстрозою (для визначення загального числа дріжджів і цвілевих грибів), після чого інкубують чашки за температури від 30 °С до 35 °С від 3 діб до 5 діб та від 20 °С до 25 °С від 5 діб до 7 діб для вирощування бактерій і грибів відповідно. Для обліку використовуються тільки ті чашки, на яких кількість колоній не перевищує 250 для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і 50 для визначення загального числа дріжджів і цвілевих грибів.

Необхідні для аналізу поживні середовища:

Соєво-казеїновий агар:

Панкреатичний гідролізат казеїну - 15,0 г

Папаїновий гідролізат соєвих бобів - 5,0 г

Натрію хлорид - 5,0 г

Агар - 15,0 г

Вода дистильована або очищена - 1000 мл

pH після стерилізації - $7,3 \pm 0,2$

Агар Сабуро з декстрозою:

Декстроза - 40,0 г

Пептонна суміш гідролізату тваринних тканин та панкреатичного

гідролізату казеїну (1:1) - 10,0 г

Агар - 15,0 г

Вода дистильована або очищена - 1000 мл

pH після стерилізації має становити $5,6 \pm 0,2$

Наведені вище поживні середовища стерилізують за температури 121 °С упродовж 15 хв.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kedderis G.L. (2010). Biotransformation of Toxicants. *Comprehensive Toxicology*, 137-151.
2. Geronikaki A. Recent Trends in Enzyme Inhibition and Activation in Drug Design. *Molecules*. 2020 Dec 22;26(1):17.
3. Ze-Tao Zhan, Lu Liu, Ming-Zhen Cheng, Yi Gao, Wei-Jie Zhou, "The Effects of 6 Common Antidiabetic Drugs on Anti-PD1 Immune Checkpoint Inhibitor in Tumor Treatment", *Journal of Immunology Research*, vol. 2022, Article ID 2651790, 2022.
4. Біохімія ферментів. Аспекти медичної ензимології : навч.-метод. посібник для підготовки до практичних занять з біологічної хімії / О. А. Наконечна, Р. О. Бачинський. – Харків, 2020. – 48 с.
5. Wilcock GK, Lilienfeld S, Gaens E. Efficacy and safety of galantamine in patients with mild to moderate Alzheimer's disease: multicentre randomised controlled trial. Galantamine International-1 Study Group. *BMJ*. 2000 Dec 9;321(7274):1445-9.
6. Kuiper LM, Khan NA. Atenolol vs nonatenolol β -blockers for the treatment of hypertension: a meta-analysis. *Can J Cardiol*. 2014 May;30(5 Suppl):S47-53.
7. Firth A, Prathapan P. Azithromycin: The First Broad-spectrum Therapeutic. *Eur J Med Chem*. 2020 Dec 1;207:112739.
8. Ni H, Li L, Liu G, Hu SQ. Inhibition mechanism and model of an angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory hexapeptide from yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *PLoS One*. 2012;7(5):e37077.
9. Patel PH, Zulfiqar H. Reverse Transcriptase Inhibitors. [Updated 2022 Dec 24]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551504/>
10. Aspirin. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00945>.

11. Allosteric Inhibition and Negative Feedback. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://study.com/learn/lesson/allosteric-inhibition-negative-feedback.html/>
12. Bonora M, Patergnani S, Rimessi A, De Marchi E, Suski JM, Bononi A, Giorgi C, Marchi S, Missiroli S, Poletti F, Wieckowski MR, Pinton P. ATP synthesis and storage. *Purinergic Signal*. 2012 Sep;8(3):343-57.
13. Lv Z, Chu Y, Wang Y. HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015 Apr 8;7:95-104.
14. Kuddus M. *Enzymes in Food Biotechnology*. Elsevier Science, 2018. Web. 15 Oct. 2022.
15. Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev*. 2006 Mar;58(1):87-114.
16. Katane M, Matsuda S, Saitoh Y, Sekine M, Furuchi T, Koyama N, Nakagome I, Tomoda H, Hirono S, Homma H. The antiviral drug acyclovir is a slow-binding inhibitor of (D)-amino acid oxidase. *Biochemistry*. 2013 Aug 20;52(33):5665-74.
17. Katz, F. S., Pecic, S., Schneider, L., Zhu, Z., Hastings, A., Luzac, M., Stojanovic, M. N. New therapeutic approaches and novel alternatives for organophosphate toxicity. *Toxicology Letters*. 2018, 291, 1–10.
18. Nilsson, S., & Santesson, S. (2000). ENZYMES. *Chromatography. Encyclopedia of Separation Science*, 2721–2732.
19. Katz AH, Caufield CE. Structure-based design approaches to cell wall biosynthesis inhibitors. *Curr Pharm Des*. 2003;9(11):857-66.
20. Bateman KS, James MN. Plant protein proteinase inhibitors: structure and mechanism of inhibition. *Curr Protein Pept Sci*. 2011;12(5):340-347.
21. Zhang, Xiaoli & Shao, Junhui & Wei, Yawei & Zhang, Hui. (2016). Efficacy of galantamine in treatment of Alzheimer's disease: An update meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2016, 9. 7423-7430.

22. Kim BH, Choi JS, Yi EH, Lee JK, Won C, Ye SK, Kim MH. Relative antioxidant activities of quercetin and its structurally related substances and their effects on NF- κ B/CRE/AP-1 signaling in murine macrophages. *Mol Cells*. 2013 May;35(5):410-20.
23. Gulati V, Harding IH, Palombo EA. Enzyme inhibitory and antioxidant activities of traditional medicinal plants: potential application in the management of hyperglycemia. *BMC Complement Altern Med*. 2012 Jun 19;12:77.
24. Deiab S, Mazzio E, Eyunni S et al. 1,2,3,4,6-Penta-Ogallolylglucose within *Galla chinensis* inhibits human LDH-A and attenuates cell proliferation in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Evid. Based Complement. Alternat. Med*. 2015, 276946 (2015).
25. Січкара, Л. А. Інгібітор трипсину рослинного походження: вивчення деяких властивостей. *ФАРМАКОМ*, 4і2001, 13.
26. Архипова В., Дзядевич С., Жаффрезік-Рено Н., Солдаткін О. Дослідження взаємодії основних глікоалкалоїдів картоплі за інгібування ними іммобілізованої бутирилхолінестерази.
27. Katiyar S, Gupta A, Kanjilal S, Katiyar S. Drug discovery from plant sources: An integrated approach. *Ayu*. 2012 Jan;33(1):10-9
28. Кислова, О. В. Інгібування амідами заміщених бензойних кислот цитоплазматичної алкогольдегідрогенази печінки щурів // *Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Серія Технічні науки* (2019).
29. Музичка О., Танчук В., Вовк А, Муравйова І., Кальченко В., Кухар В. Калікс[4]аренметиленбісфосфонові кислоти: особливості інгібування лужних фосфатаз. *Український біохімічний журнал*, 2007
30. Dragovich PS, Fauber BP, Corson LB et al. Identification of substituted 2-thio-6-oxo-1,6-dihydropyrimidines as inhibitors of human lactate dehydrogenase. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 23, 3186–3194 (2013).

31. Fauber BP, Dragovich PS, Chen J et al. Identification of 3,6-disubstituted dihydropyrone as inhibitors of human lactate dehydrogenase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 24, 5683–5687 (2014).
32. Rupiani S, Buonfiglio R, Manerba M et al. Identification of N-Acylhydrazone derivatives as novel lactate dehydrogenase A inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 101, 63–70
33. Chen CY, Feng Y, Chen JY et al. Identification of a potent inhibitor targeting human lactate dehydrogenase A and its metabolic modulation for cancer cell line. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26, 72–75 (2016).
34. Petrou, A.; Eleftheriou, P.H.; Geronikaki, A.; Akrivou, M.G.; Vizirianakis, I. Novel Thiazolidin-4-ones as Potential Non-Nucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase. *Molecules*, 2019, 24, 3821.
35. Jian Y, Hulpia F, D. P. Risseeuw M, Forbes HE, Caljon G, Munier-Lehmann H, I. M. Boshoff H, Van Calenbergh S. 1-(1-Arylethylpiperidin-4-yl)thymine Analogs as Antimycobacterial TMPK Inhibitors. *Molecules*. 2020; 25(12):2805.
36. Kritsi E, Matsoukas M-T, Potamitis C, Detsi A, Ivanov M, Sokovic M, Zoumpoulakis P. Novel Hit Compounds as Putative Antifungals: The Case of *Aspergillus fumigatus*. *Molecules*. 2019; 24(21):3853.
37. Diot, J., García-Moreno, M. I., Gouin, S. G., Ortiz Mellet, C., Haupt, K., & Kovensky, J. Multivalent iminosugars to modulate affinity and selectivity for glycosidases. *Org. Biomol. Chem.* 2009, 7(2), 357–363.
38. Decroocq, C., Rodríguez-Lucena, D., Ikeda, K., Asano, N., & Compain, P. (2012). Cyclodextrin-Based Iminosugar Click Clusters: The First Examples of Multivalent Pharmacological Chaperones for the Treatment of Lysosomal Storage Disorders. *ChemBioChem*, 13(5), 661–664.
39. Ruocco N, Costantini S, Palumbo F, Costantini M. Marine Sponges and Bacteria as Challenging Sources of Enzyme Inhibitors for Pharmacological Applications. *Mar Drugs*. 2017 Jun 12;15(6):173.

40. Jayaraj, S., Suresh, S., & Kadeppagari, R.-K. (2013). Amylase inhibitors and their biomedical applications. *Starch - Stärke*, 65(7-8), 535–542.
41. Meng, P., Guo, Y., Zhang, Q., Hou, J. et al., A novel amino-oligosaccharide isolated from the culture of *Streptomyces* strain PW638 is a potent inhibitor of α -amylase. *Carbohydr. Res.* 2011, 346, 1898–1902.
42. Jabila Mary TR, Kannan RR, Muthamil Iniyan A, Carlton Ranjith WA, Nandhagopal S, Vishwakarma V, Prakash Vincent SG. β -lactamase inhibitory potential of kalafungin from marine *Streptomyces* in *Staphylococcus aureus* infected zebrafish. *Microbiol Res.* 2021 Mar;244:126666.
43. López-Agudelo VA, Gómez-Ríos D, Ramirez-Malule H. Clavulanic Acid Production by *Streptomyces clavuligerus*: Insights from Systems Biology, Strain Engineering, and Downstream Processing. *Antibiotics.* 2021; 10(1):84.
44. Jakubiec-Krzesniak K, Rajnisz-Mateusiak A, Guspiel A, Ziemska J, Solecka J. Secondary Metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifungal and Antiviral Properties. *Pol J Microbiol.* 2018;67(3):259-272.
45. Karthik, L., Kumar, G., Keswani, T., Bhattacharyya, A., Chandar, S. S., & Bhaskara Rao, K. V. (2014). Protease inhibitors from marine actinobacteria as a potential source for antimalarial compound. *PloS one*, 9(3).
46. Quintero D, Bermudes D. A culture-based method for determining the production of secreted protease inhibitors. *J Microbiol Methods.* 2014 May;100:105-10.
47. Luo C, Zhou H, Zou J, Wang X, Zhang R, Xiang Y, Chen Z. Bacillomycin L and surfactin contribute synergistically to the phenotypic features of *Bacillus subtilis* 916 and the biocontrol of rice sheath blight induced by *Rhizoctonia solani*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015 Feb;99(4):1897-910.
48. Fernandes, Paulo André Vicente; Arruda, Isabel Renata de; Santos, Antônio Fernando Amatto Botelho. Antimicrobial activity of surfactants produced by *Bacillus subtilis* R14 against multidrug-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2007; 38(4), 704–709.

49. Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014 Nov 28;346(6213):1258096.
50. Gillor O, Kirkup BC, Riley MA. Colicins and microcins: the next generation antimicrobials. *Adv Appl Microbiol*. 2004;54:129-46.
51. Li Y. Recombinant production of antimicrobial peptides in *Escherichia coli*: a review. *Protein Expr Purif*. 2011 Dec;80(2):260-7.
52. Cho HS, Jo JC, Shin CH, Lee N, Choi JS, Cho BK, Roe JH, Kim CW, Kwon HJ, Yoon YJ. Improved production of clavulanic acid by reverse engineering and overexpression of the regulatory genes in an industrial *Streptomyces clavuligerus* strain. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2019 Aug;46(8):1205-1215.
53. Li Y, Smolke CD. Engineering biosynthesis of the anticancer alkaloid noscapine in yeast. *Nat Commun*. 2016 Jul 5;7:12137.
54. Orlandella RM, Turbitt WJ, Gibson JT, Boi SK, Li P, Smith DL Jr, Norian LA. The Antidiabetic Agent Acarbose Improves Anti-PD-1 and Rapamycin Efficacy in Preclinical Renal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020 Oct 6;12(10):2872.
55. Orlandella RM, Smith DL, Norian L. Acarbose enhances intratumoral CD8 T cell responses in a pre-clinical model of kidney cancer [abstract]. In: *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2019*; 2019 Mar 29-Apr 3;
56. Liu L, Dai WZ, Zhu XC, Ma T. A review of autophagy mechanism of statins in the potential therapy of Alzheimer's disease. *J Integr Neurosci*. 2022 Mar 18;21(2):46.
57. Vitiello A, Troiano V, La Porta R. Statins in Alzheimer's disease (AD). *Eur J Clin Pharmacol*. 2022 Jul;78(7):1201-1202.
58. Fröhlich H, Henning F, Täger T, Schellberg D, Grundtvig M, Goode K, Corletto A, Kazmi S, Hole T, Katus HA, Atar D, Cleland JGF, Agewall S, Frankenstein L, Clark AL. Comparative effectiveness of enalapril, lisinopril, and ramipril in the treatment of patients with chronic heart failure: a propensity

- score-matched cohort study. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*. 2018 Apr 1;4(2):82-92.
59. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020.
60. Turajlic S, Swanton C, Boshoff C. Kidney cancer: The next decade. *J Exp Med*. 2018 Oct 1;215(10):2477-2479.
61. Бюлетень Національного канцер-реєстру України №23. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_23/PDF/BULL_23.pdf.
62. Kidney Cancer: Types of Treatment. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.cancer.net/cancer-types/kidney-cancer/types-treatment>
63. Orlandella RM, Turbitt WJ, Gibson JT, Boi SK, Li P, Smith DL Jr, Norian LA. The Antidiabetic Agent Acarbose Improves Anti-PD-1 and Rapamycin Efficacy in Preclinical Renal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020 Oct 6;12(10):2872.
64. Rachael M. Orlandella, Daniel L. Smith, Lyse A. Norian. Acarbose enhances intratumoral CD8 T cell responses in a pre-clinical model of kidney cancer [abstract]. In: *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2019*; 2019 Mar 29-Apr 3.
65. Устаткування асептичних і неасептичних виробництв лікарських засобів. Конспект лекцій для студентів спеціальності 133 “Галузеве машинобудування» спеціалізація «Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв» / Уклад.: В.М. Поводзинський, В.Ю. Шибецький – К.: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. – 251с.
66. Акарбоза діюча речовина. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/substance/1676/>
67. Акарбоза. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://preparaty.org/info/743>

68. Тверді лікарські форми. DMUPharm
<http://dmupharm.pp.ua/index.php/temi/13-tverdi-likarski-formi>.
69. Сучасні фармацевтичні технології : навч. посіб. до лабораторних занять магістрантів денної, вечірньої та заочної форми навчання спеціальності 8.110201 «Фармація» / під ред. О. А. Рубан. – Х. : Вид-во НФаУ, 2016. – 256 с.
70. A WHO Guide to good manufacturing practice (GMP) requirements. Annex 9. Guidelines on packaging for pharmaceutical products [Електронний ресурс]. Режим доступу:
<http://www.gmpua.com/World/WHO/Annex9/trs902ann9.pdf>.
71. Метод. вказ. для самост. роботи студентів-бакалаврів з дисципліни «Медичне і фармацевтичне товарознавство» спеціальності «Сестринська справа» / уклад.: Т. І. Єрмоленко, А. В. Александрова, О. М. Губська – Харків: ХНМУ, 2016. – 175 с.
72. Шендерівська Л.П., Савенок Д.А. Тенденції розвитку ринку упаковки України. Науковий вісник Міжнародного гуманітарного університету. 97- 101.
73. Карлаш Ю.В., Красінько В.О. Основи проектування біотехнологічних виробництв. Електронний ресурс: Навч. посібник. –К.:НУХТ, 2022. –373 с.
74. Li Z, Yang S, Zhang Z, Wu Y, Tang J, Wang L, Chen S. Enhancement of acarbose production by genetic engineering and fed-batch fermentation strategy in *Actinoplanes* sp. SIFI12-34. *Microb Cell Fact.* 2022 Nov 23;21(1):240.
75. Черевко О. І, Поперечний А. М. Процеси і апарати харчових виробництв: підручник / О. І. Черевко, А. М. Поперечний. 2-е видання, доп. та випр. Х.: Світ Книг, 2014. 495 с.
76. Сидоров Ю. І., Влязло Р. Й., Новіков В. П. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості. Технологічні

- розрахунки. Приклади і задачі. Основи проектування: Навчальний посібник. – Львів: «Інтелект-Захід», 2008. – 736 с.
77. Конспект лекцій з курсу „Процеси та апарати хімічної технології”, розділ «Мембранні процеси» для студентів II-V курсів усіх спеціальностей / Укл.: О.О. Тертишний, О.В. Тертишна. – Дніпропетровськ: ДВНЗ УДХТУ, 2011. – 79 с.
78. Tuyen, D. T., Yew, G. Y., Cuong, N. T., Hoang, L. T., Yen, H. T., Hong Thao, P. T., Show, P. L. (2020). Selection, purification, and evaluation of acarbose—an α -glucosidase inhibitor from *Actinoplanes* sp. *Chemosphere*, 129167.
79. Nguyen, The & Le, Thanh & Tuyen, Do. (2017). Optimization of culture medium for the cultivation of *Actinoplanes* sp. mutant strains and purification of acarbose. *Journal of Vietnamese Environment*. 8. 14-20.
80. Іонний обмін та іонообмінна хроматографія / В.О. Мінаєва. – Черкаси: Вид. від. ЧНУ ім. Богдана Хмельницького, 2013. – 128 с.
81. Juan F. Rodriguez; Antonio De Lucas; Manuel Carmona, Fátima Cañas (2008). Application of ion exchange to purify acarbose from fermentation broths. *Biochem Engineering Journal*. 40(1), 130–137.
82. Akram, Muhammad & Rashid, Abid & Laila, Umme & Zainab, Rida & Min, Ho. (2022). Uses of activated carbon in medicine area: short review. 7. 34-39.
83. Процеси і апарати. Гідромеханічні процеси: Підручник / В.С. Бойко, К.О. Самойчук, В.Г. Тарасенко, Н.П. Загорко, В.Г. Циб. – Мелітополь, 2019. – 212с.
84. Процеси, апарати та устаткування виробництв галузі : конспект лекцій / укл. Ю. М. Давидюк. – Чернівці : Чернівецький нац. ун-т, 2013. – Ч. II. Теплові процеси. – 128 с.
85. Фізичні методи очищення рідин: конспект лекцій / Уклад.: О.М. Терентьев, А.В. Ворфоломеев. – К.: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2017. – 162 с.

86. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва. Д.І. Дмитрієвський.-Вінниця: Нова книга, 2008.-280 с.
87. Wrzosek, K., Moravcik, J., Antosova, M., Illeova, V., Polakovic, M., 2013. Spray-drying of the mixtures of mono-, di-, and oligosaccharides. Acta Chim. Slovaca 6, 177–181.
88. Буценко Л.М., Пенчук Ю.М., Пирог Т.П. Технології мікробного синтезу лікарських засобів: навч. посіб. – К.: НУХТ, 2010. – 323 с.
89. U.S. Pharmacopeia 44 National Formulary 39. Volume 1 – Volume 5.
90. Класифікація виробничих приміщень. [Електронний ресурс] - Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3558/klasifikaciya-virobnichix-primishhen>
91. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.9:2020 Лікарські засоби. Належна виробнича практика.
92. Грегірчак Н.М. Мікробіологія, санітарія і гігієна виробництв з основами НАССР [Електронний ресурс]: конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» 88 освітньо-професійної програми «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Н.М.Грегірчак – К.: НУХТ, 2020. – 177 с.
93. Біомой. Інструкція. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://dezmed.com.ua/ru/instruktsiia/item/biomoj-metodicheskie-rekomendatsii-instruktsiya-po-primeneniyu/>.
94. Засіб дезінфікуючий "Нью Дез Актив". [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://viola.net.ua/ua/%D0%B2%D0%B8%D1%82%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BD%D1%96> .
95. Дезактин. Інструкція до застосування. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://dezmed.com.ua/ru/instruktsiia/item/dezaktin-metodicheskie-rekomendatsii-instruktsiya-po-primeneniyu/>.
96. Скінман Софт. Інструкція до застосування. [Електронний ресурс] – режим доступу: <https://dezplus.com.ua/catalogue/disinfection/antiseptis/skinman-soft.html>.

97. Фамідез Дезодерм. Інструкція до застосування. [Електронний ресурс] – режим доступу:
<https://famidez.ua/doc/2020%20MI%20Famidez%20Dezoderm.pdf>.
98. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студ. освітнього ступеня бакалавр спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ден. та заоч. форм навч. / І.В. Лич. – К.: НУХТ, 2017. – 323 с.
99. ДСанПіН 2.2.4-171-10. Вода питна. «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» [Текст]. – Чинний від 01.07.2010. – К.: Міністерство охорони здоров'я, 2010. – 25 с.
100. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.7:2013 «Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармації».
101. Установа Eurowater CU: PHARMA. [Електронний ресурс] – режим доступу:
<https://www.eurowater.com/ua/%D0%BE%D0%B1%D1%94%D0%BA%D1%82%D0%B8/%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BD%D0%B0-%> .
102. Pat. CN103315971B. Acarbose tablets and preparation method / Hainan Huluwa. Publ. 04.03.2015.
103. Pat. CN106265702A. Acarbose medicine composition and preparation method/ Liu Faqian. Publ. 04.01.2017.
104. Dilip M, Ruby JJ. Formulation and evaluation of acarbose pellets by extrusion spheronization technique. *Inter Journal of Current Pharm Research*. 2020 Nov 15:67-73.
105. Тригубчак О. В. Використання компактування при виробництві таблеток. *Актуал. питання фармац. і мед. науки та практики* . - 2016. - N 2. - С. 118-127.
106. Конспект лекцій до розділу «Механічні процеси» з курсу —Процеси та апарати хімічних виробництв» для студентів III-IV курсів механічних

спеціальностей / Укл. С.О. Опарін. – Дніпропетровськ: ДВНЗ УДХТУ, 2012. – 112 с.

107. Біновий змішувач (міксер). [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <https://www.agierre.eu/public/index.php?node=43&subpg=catalogo-prodotti-view&idntree=12&idprod=23&category=-&product=->.
108. Таблеткові машини. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2126/tabletkovi-mashini>.
109. Нормативно-директивні документи МОЗ України. GLUCOBAY®. [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=4041>.