

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**Факультет біотехнології та екологічного контролю  
Кафедра біотехнології і мікробіології**

**«До захисту в ЕК»**  
Директор інституту(декан факультету)  
Наталія ГРЕГІРЧАК  
(підпис) (прізвище та ініціали)

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

**«До захисту допущено»**  
Завідувач кафедри  
Віктор СТАБНІКОВ  
(підпис) (прізвище та ініціали)

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ 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: Біосинтез антибіотиків представниками роду *Bacillus*

---

Виконав: здобувач 2 курсу, групи ЗФБ-1-2м

Волошин Владислав Юрійович  
(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Керівник Воронцов Олександр Олександрович  
(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Консультанти

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

\_\_\_\_\_ (підпис)

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

\_\_\_\_\_ (підпис)

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Рецензент

Людмила РЕШЕТНЯК

\_\_\_\_\_ (прізвище та ініціали)

\_\_\_\_\_ (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) недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач \_\_\_\_\_

(підпис)

Київ - 2023р.

# 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 СТАБНІКОВ

“ ” 202 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

**Волошин Владислав Юрійович**

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Біосинтез антибіотиків представниками роду *Bacillus*»

керівник роботи Воронцов Олександр Олександрович, доцент

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2022 року № 780-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 2 лютого 2023 року

3. Вихідні дані до роботи біологічний агент: *Bacillus licheniformis*  
DW2

цільовий продукт: Антибіотичний нашкірний препарат на основі  
бацитрацину цинку

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

РОЗДІЛ 1. Огляд літератури, РОЗДІЛ 2. Підбір технологічного обладнання з

врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції, РОЗДІЛ

3. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по

стадіях, РОЗДІЛ 4. Специфікація обладнання (етапи виділення та очистки

субстанції), РОЗДІЛ 5. Опис технологічної схеми післяферментаційного

виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ, РОЗДІЛ 6. Контроль

виробництва субстанції для ЛЗ, РОЗДІЛ 7. Обґрунтування вибору

технологічної схеми одержання ЛЗ, РОЗДІЛ 8. Виробнича рецептура та

матеріальний баланс на ЛЗ РОЗДІЛ 9. Специфікація обладнання (етапи

отримання ЛЗ) РОЗДІЛ 10. Опис технологічної схеми отримання ЛЗ, РОЗДІЛ

11. Контроль виробництва ЛЗ РОЗДІЛ 12. Опис лікарського засобу згідно

АНД

5. Перелік графічного матеріалу Апаратурна схема виробництва – 1 аркуш  
A1. Технологічна схема – 1 аркуш A3

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 листопада 2022 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

| №  | Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи   | Строк виконання етапів роботи | Примітка |
|----|---|-------------------------------|----------|
| 1  | Огляд літератури  | 15.11.2022-<br>22.11.2022     |          |
| 2  | Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції | 23.11.2022-<br>28.11.2022     |          |
| 3  | Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях                      | 29.11.2022-<br>03.12.2022     |          |
| 4  | Специфікація обладнання (етапи виділення та очистки субстанції)                                     | 04.12.2022-<br>07.12.2023     |          |
| 5  | Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ      | 08.12.2023-<br>13.12.2023     |          |
| 6  | Контроль виробництва субстанції для ЛЗ  | 14.12.2023-<br>17.12.2023     |          |
| 7  | Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ   | 18.12.2023-<br>23.12.2023     |          |
| 8  | Виробнича рецептура та матеріальний баланс на ЛЗ. Специфікація обладнання                           | 24.12.2023-<br>30.12.2023     |          |
| 9  | Опис технологічної схеми отримання ЛЗ.<br>Контроль виробництва ЛЗ                                   | 31.01.2023-<br>10.01.2023     |          |
| 10 | Опис лікарського засобу згідно АНД  | 11.01.2023-<br>15.01.2023     |          |
| 11 | Оформлення пояснювальної записки  | 16.01.2023-<br>19.01.2023     |          |
| 12 | Виконання графічної частини проекту   | 20.01.2023-<br>31.01.2023     |          |

Здобувач

\_\_\_\_\_ (підпис)

Владислав ВОЛОШИН

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_ (підпис)

Олександр ВОРОНЦОВ

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| <b>РЕФЕРАТ</b> .....  | 6  |
| <b>ВСТУП</b> .....  | 8  |
| <b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....   | 10 |
| 1.1 Глобальна антибіотикова резистентність .....  | 10 |
| 1.2 Методи боротьби з антибіотикорезистентністю.....  | 17 |
| 1.3 Оптимізація методів синтезу бацитрацин .....  | 26 |
| <b>РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ<br/>ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ</b> .....  | 32 |
| 2.1 Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання<br>субстанції для інженерної частини роботи.....   | 32 |
| 2.2 Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок<br>річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості<br>субстанції..... | 40 |
| 2.3 Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей<br>використання, потреби у ЛЗ .....   | 44 |
| 2.4 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу .....   | 49 |
| <b>РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З<br/>ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ<br/>ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ</b> .....                                | 56 |
| 3.1 Відділення біомаси від культуральної рідини.....  | 57 |
| 3.2 Обробка супернатанту .....  | 62 |
| <b>РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ<br/>ТА ОЧИСТКИ СУБСТАНЦІЇ)</b> .....  | 77 |
| <b>РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ<br/>ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ<br/>ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ</b> .....                                     | 80 |
| <b>РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ</b> .....   | 83 |
| <b>РОЗДІЛ 7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ<br/>ОДЕРЖАННЯ ЛЗ</b> .....  | 87 |

|   |            |
|---|------------|
| 7.1 Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік ..... | 87         |
| 7.2 Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень .....              | 87         |
| 7.3 Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки .....                    | 93         |
| 7.4 Обґрунтування вибору підготовки води.....                                   | 94         |
| 7.5 Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання .....                    | 96         |
| <b>РОЗДІЛ 8. ВИРОБНИЧА РЕЦЕПТУРА ТА МАТЕРІАЛЬНИЙ</b>                            |            |
| <b>БАЛАНС НА ЛЗ .....</b>   | <b>110</b> |
| <b>РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ ОТРИМАННЯ</b>                       |            |
| <b>ЛЗ) .....</b>  | <b>113</b> |
| <b>РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛЗ..</b>                       |            |
| <b>115</b>  |            |
| <b>РОЗДІЛ 11. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ЛЗ.....</b>                                  |            |
| <b>118</b>  |            |
| <b>РОЗДІЛ 12. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД .....</b>                      |            |
| <b>120</b>  |            |
| 12.1 Склад і загальні відомості про препарат.....                               | 120        |
| 12.2 Характеристики ЛЗ.....   | 121        |
| 12.3 Вимоги до сировини та матеріалів .....                                     | 124        |
| 12.4 Пакування .....  | 126        |
| 12.5 Вимоги безпеки і охорони довкілля, утилізування.....                       | 128        |
| 12.6 Правила приймання .....  | 130        |
| 12.7 Періодичні випробування.....   | 131        |
| 12.8 Методи контролювання.....  | 131        |
| 12.9 Транспортування та зберігання .....  | 132        |
| 12.10 Гарантії виробника .....  | 133        |
| <b>ВИСНОВОК.....</b>  |            |
| <b>134</b>  |            |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....</b>                                      |            |
| <b>135</b>  |            |

## РЕФЕРАТ

*Тема дослідження:* Біосинтез антибіотиків представниками роду *Bacillus*.

*Мета дослідження* – розробка техніко-технологічних рішень з виробництва протимікробного засобу для зовнішнього застосування на основі *Bacillus licheniformis DW2*.

*Завдання дослідження:*

- аналітично-інформаційний пошук (огляд літератури).
- техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу (ЛЗ): аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ (нинішня та враховуючи перспективи); обґрунтування вибору форми випуску ЛЗ; обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ; обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи; розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції;
- підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції;
- розробка специфікація обладнання та технологічної схеми для виробництва проектного ЛЗ;
- опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ;
- контроль виробництва субстанції для ЛЗ;
- обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ: розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік; обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень (підготовки персоналу, дезінфікуючих засобів, вентиляційного повітря); обґрунтування вибору підготовки

- первинної упаковки; обґрунтування вибору підготовки води;  
вибір технологічних стадій та операцій, обладнання;
- розрахунок матеріального балансу на серію ЛЗ;
  - розробка АНД на ЛЗ.

*Об'єкт дослідження* – бактеріальний штамм *Bacillus licheniformis DW2*.

*Предмет дослідження* – рішення з оптимізації використання *Bacillus licheniformis DW2* у виробництві антибактеріальних ЛЗ.

*Методи дослідження* – інформаційний та науковий пошук, бібліометрія та таксонометрія, дослідження вимог технічних регламентів та проектних рішень, виконання технічних, техніко-економічних розрахунків, емпіричні спостереження та корелятивний аналіз з подальшим формуванням аналітичних висновків.

*Практичне значення дослідження* полягає в отриманні оптимальних техніко-технологічних рішень з підвищення ефективності використання природного бактеріального штаму *Bacillus licheniformis DW2*, що не лише сприятиме у рішенні глобальної проблематики інтенсифікації резистентності хворобоутворюючих патогенів, а й сприятиме покращенню технологічних рішень у суміжних галузях використання досліджуваного природного матеріалу.

*Структура роботи.* Робота складається з 12 розділів, обсяг основного тексту 132 сторінок, кількість рисунків 25, кількість таблиць 34, використаних джерел – 105.

## ВСТУП

На сучасному етапі розвитку людства медична сфера зіткнулася з глобальною системною проблемою – відсутність належного контролю за вживанням антибіотиків, антибактеріальних та антимікробних препаратів. Позначена проблематика глобального характеру утворила цілий кластер суміжних аспектів під загальним вектором – антибіотикова резистентність (*antibiotic-resistant bacterial infections*), при якій інфекційнонебезпечні та патогенні мікроорганізми та бактерії більш не сприйнятливі до хімічного придушення інфекції і призводять до смерті мільйонів пацієнтів по всьому світу.

Як адекватна реакція на зазначену загальносистемну зростаючу проблему антибіотиків резистентності, у сфері медицини та охорони здоров'я розвивається методологія безантибіотичної терапії інфекційних захворювань (*Non-antibiotic Therapies*), що, зокрема, зазначено у дослідженні М. Kumar [10], в якому представлена потенційна стратегія боротьби зі стійкими до антибіотиків патогенами, що передбачає системні рішення, в т. ч. розробка нових комбінованих препаратів та засобів.

Однією з перспективних матеріалів для виробництва антибактеріальних засобів є штамм *Bacillus licheniformis DW2*, що засвідчено у відповідних профільних наукових працях Z. Wu [11], S. Hu [12], S. E. M. Tolibia [13], J. Zhu [14], A. Muras [15] та ін.

Таким чином, з огляду на зазначену наукову проблематику щодо загальносистемного помилкового застосування препаратів антибіотикового спектра дії, зазначений дослідний вектор є актуальним та обґрунтованим.

|            |             |                    |               |             |                                 |             |                |
|------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------|-------------|----------------|
|            |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b> |             |                |
| <b>Змн</b> | <b>Арк.</b> | <b>№ документа</b> | <b>Підпис</b> | <b>Дата</b> | <b>ВСТУП</b>                    |             |                |
| Розроб     |             | Волошин            |               |             |                                 |             |                |
| Перевір.   |             | Воронцов           |               |             |                                 |             |                |
| Консульта  |             |                    |               |             |                                 |             |                |
| Н. Контр.  |             |                    |               |             |                                 |             |                |
| Затверд.   |             | Стабніков          |               |             |                                 |             |                |
|            |             |                    |               |             | <b>Літ.</b>                     | <b>Арк.</b> | <b>Акрюшів</b> |
|            |             |                    |               |             |                                 | 6           | 2              |
|            |             |                    |               |             |                                 |             | 8              |
|            |             |                    |               |             | <b>Кафедра БТМ</b>              |             |                |

**Актуальність дослідження:** вирішення проблематики глобального характеру – зростаючої резистентності патогенів, для терапії яких використовуються протоколи лікування із застосуванням антибіотиків та протимікробних засобів. Позначений фактор, що загрожує глобальному стану здоров'я світової спільноти, став можливим у наслідок зростання резистентної мікрофлори, яка впливає на загальний рівень захворюваності в світі, зростає кількість внутрішньолікарняних інфекцій від 12% до 40%. Не забезпечення в Україні системи лікування від резистентних патогенів.

**Наукова новизна** на отриманні аналітичних висновків стосовно синтезу ефективних антибіотиків мікроорганізмами *Bacillus* у виробництві проектного антибактеріального ЛЗ. Проведення аналізу новітніх наукових досліджень в виробництві ефективних антибіотиків нового покоління.

Значний вплив на наукову значимість поточного дослідження є отримання порівняльних результатів збільшення продуктивності виробництва цільового антибіотикового ЛЗ, шляхом інтеграції в виробничий процес саме продуценту *Bacillus licheniformis DW2*.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Глобальна антибіотикова резистентність

Виявлено проблематику сучасної системи охорони здоров'я щодо протоколів лікування інфекційних захворювань, що носить глобальний загальнопланетарний характер – резистентність бактерій, патогенів та мікробів до сучасних антибіотиків та протимікробних препаратів, що призводить до збільшення летальних наслідків серця пацієнтів, зважаючи на відсутність альтернативних методів (Рисунок 1).

Ця проблематика виникла насамперед у зв'язку з неконтрольованим та самовільним вживанням антибіотиків та протимікробних препаратів населенням планети без відповідного призначення з боку лікарів, що призводить до фактичного зростання резистентності патогенних інфекцій до існуючих антибіотиків та протимікробних препаратів.

У дослідженні [17] зазначається, що поява резистентності до протимікробних препаратів (*antimicrobial resistance (AMR)*) є зростаючою загрозою громадському здоров'ю в усьому світі, і споживання антибіотиків все частіше визнається основним селективним тиском, що спричиняє цю стійкість. Публікація [17] містить аналітичні дані про національну резистентність до конкретних резистентних патогенів, які Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) (*the World Health Organization (WHO)*) вважає пріоритетними, і дані про споживання антибіотиків для 61 країни, щоб оцінити глобальні тенденції стійкості до антибіотиків цих поширених бактеріальних патогенів та їх зв'язок із споживанням антибіотиків. Встановлено, що країни з низьким і середнім рівнем доходу (*low- and middle-income countries (LMIC)*) являли собою найбільші гарячі точки резистентності,

|            |             |                    |               |             |                                       |                    |      |          |
|------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------------|--------------------|------|----------|
|            |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>       |                    |      |          |
| <b>Змн</b> | <b>Арк.</b> | <b>№ документа</b> | <b>Підпис</b> | <b>Дата</b> |                                       |                    |      |          |
| Розроб     |             | Волошин            |               |             | <b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД<br/>ЛІТЕРАТУРИ</b> | Літ.               | Арк. | Актовнів |
| Перевір.   |             | Воронцов           |               |             |                                       |                    | 8    | 22 10    |
| Консульта  |             |                    |               |             |                                       | <b>Кафедра БТМ</b> |      |          |
| Н. Контр.  |             |                    |               |             |                                       |                    |      |          |
| Затверд.   |             | Стабніков          |               |             |                                       |                    |      |          |

у яких були відносно вищі показники резистентності поширених бактеріальних патогенів, але нижчі показники споживання антибіотиків порівняно з країнами з високим рівнем доходу (*high-income countries (HIC)*).

## Timeline of Antibiotic Resistance

Nearly as quickly as life-saving antibiotics are created, new drug-resistant infections appear

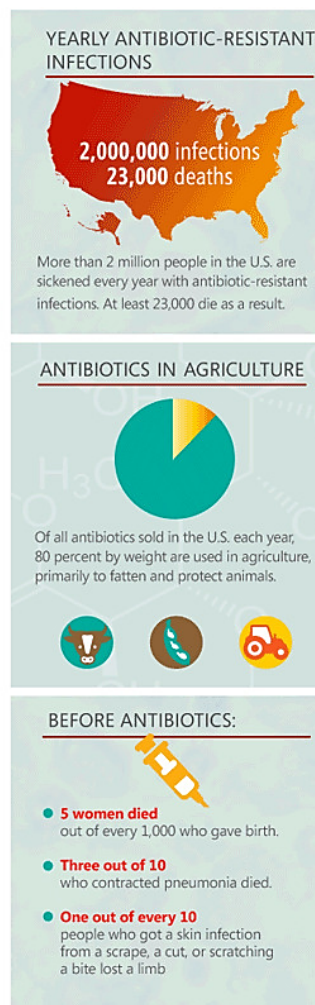
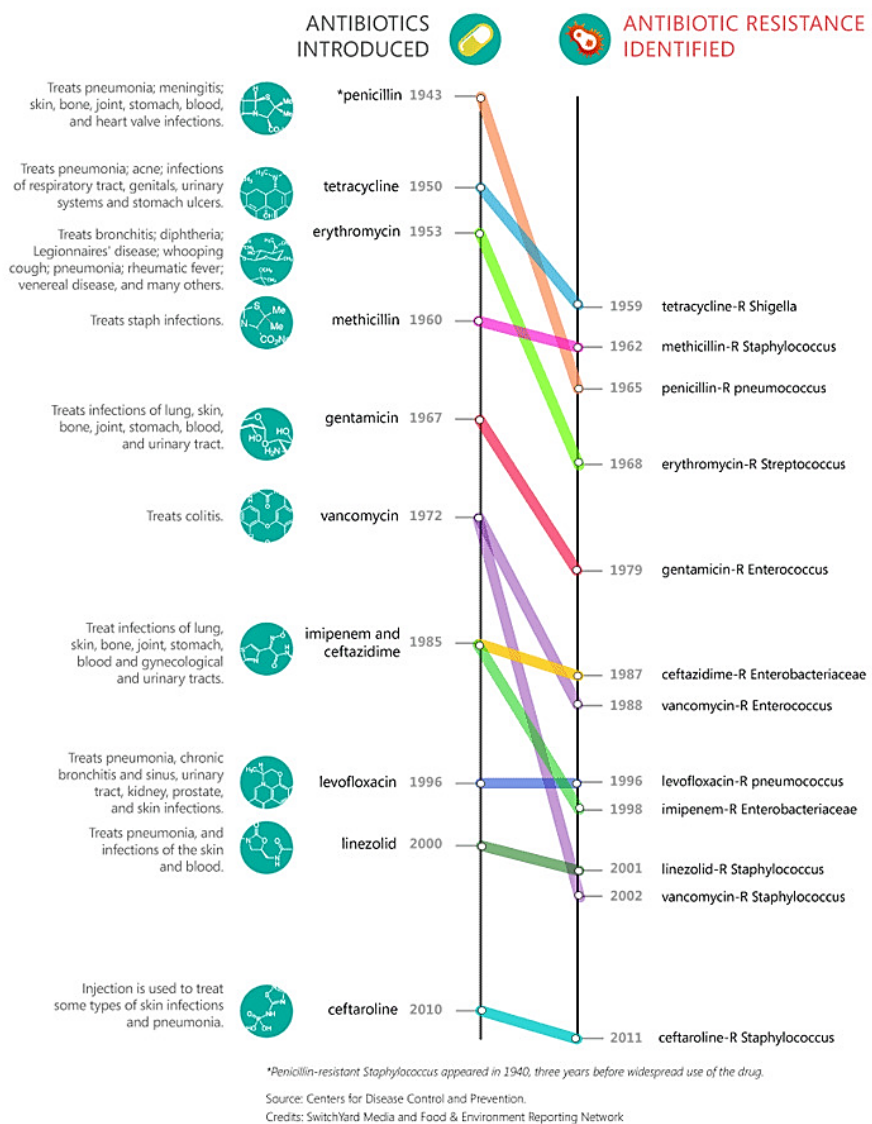


Рисунок 1 – Хронометрична послідовність динаміки глобальної антибіотикової резистентності (та відповідних наслідків), що систематизована у дослідженні [16]

Зокрема, [17] розроблено нормалізований індекс резистентності до антибіотиків/споживання (*the Normalized Antibiotic Resistance/Consumption Index (NARCI)*) і створено глобальні карти *NARCI*, щоб приблизно оцінити доцільність споживання антибіотиків у різних країнах і вказати потенційно недоцільне споживання антибіотиків у країнах із низьким доходом і високим рівнем доходу. Крім того, [17] встановлений корелятивний зв'язок між показниками споживання антибіотиків і показниками резистентності цільових патогенів у поєднанні з *NARCI* та кореляційним аналізом між використанням антибіотиків і резистентністю, щоб інформувати про стратегії послаблення загрози стійкості до антибіотиків у всьому світі – Рисунок 2.

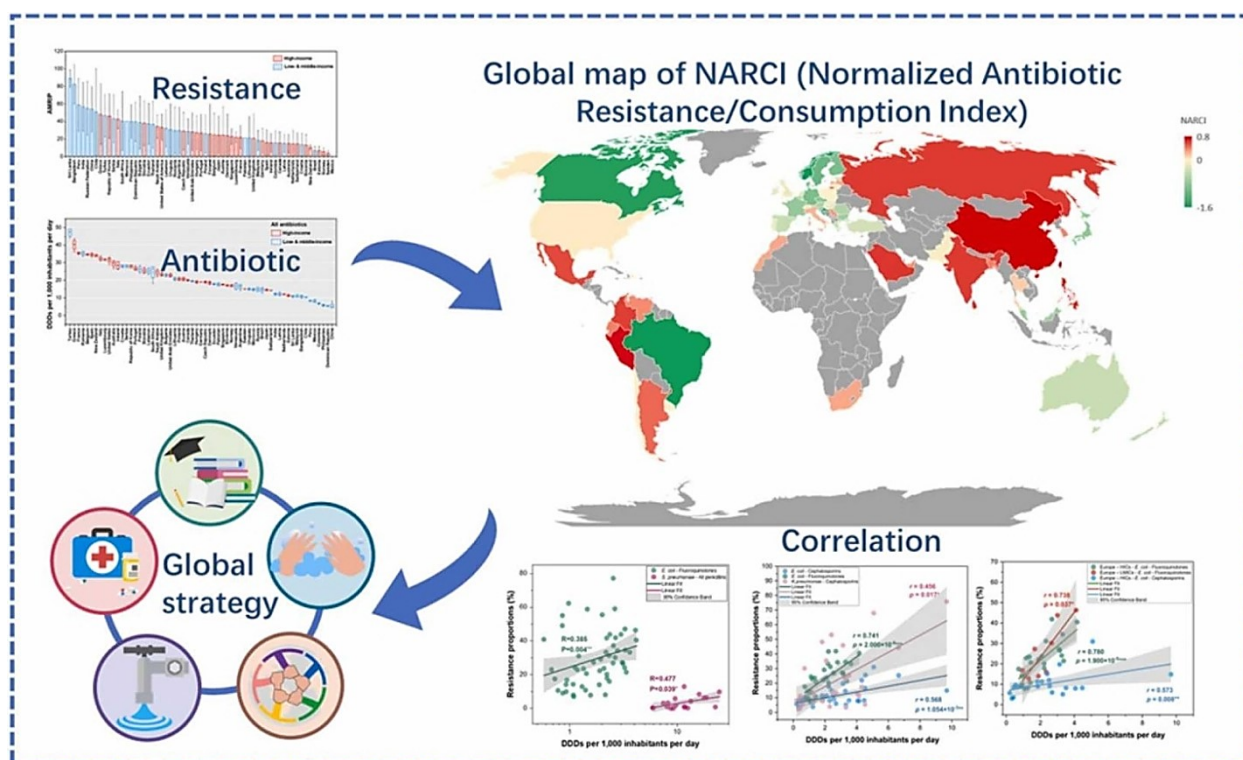


Рисунок 2 – Результати дослідження J. Нои [17] щодо підвищеної антибіотикової резистентності в країнах з низьким та середнім рівнем статків

Актуальне дослідження [18] вказує на сучасний період формування резистентності до класичних антибіотичних протоколів лікування на прикладі такого патогенного мікроорганізму, як *Campylobacter*. За останні 18

місяців статті про антибіотикорезистентність *Campylobacter* були опубліковані в ~39 країнах. Стійкий до антибіотиків *Campylobacter* був виявлений у людей, худоби, птиці, диких тварин, навколишнього середовища та їжі. *Campylobacter spp.* стійкі до широкого спектру антимікробних засобів, включаючи антибіотики хінолони, макроліди, тетрацикліни, аміноглікозиди та хлорамфеніколи – Рисунок 3.

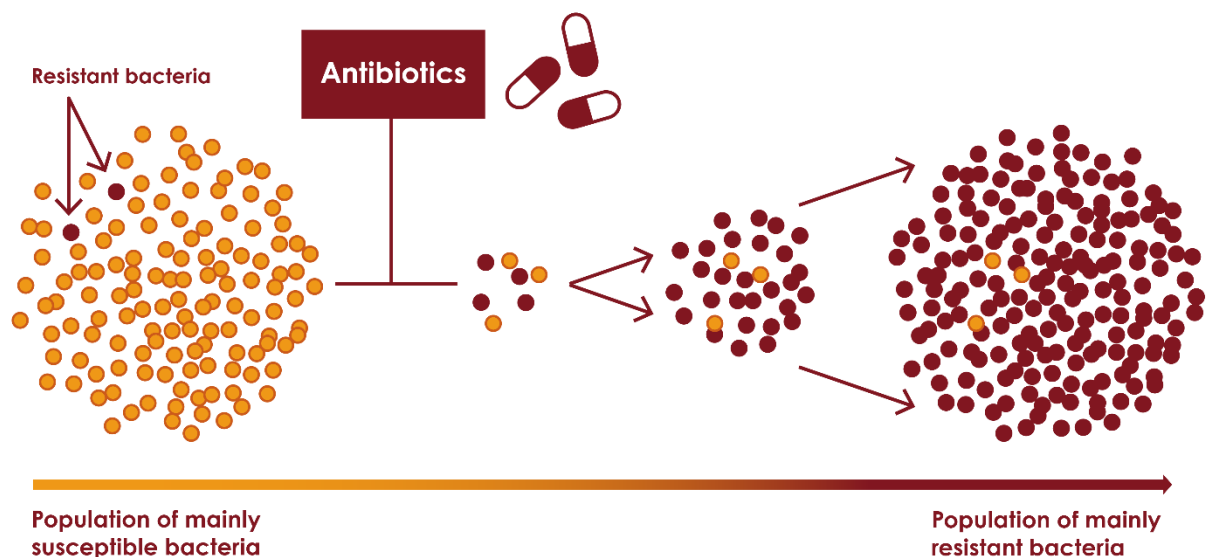
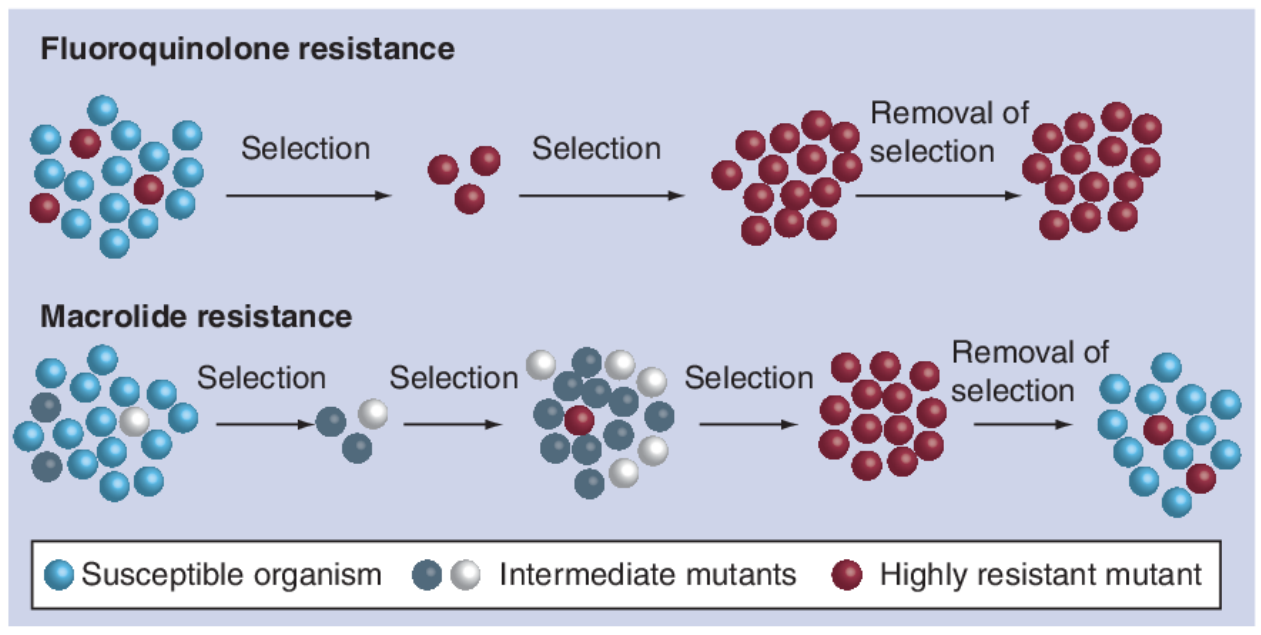


Рисунок 3 – Візуалізація результатів набуття резистентності *Campylobacter* до типових препаратів антибіотичного спектру та візуалізація уніфікованого

механізму формування популяцій патогенів зі стійкістю до протимікробних засобів, що наводяться в публікації [18]

Стойкість до різних лікарських засобів є глобальною проблемою. Постійний тиск антибіотиків сприяє поширенню стійких до ліків *Campylobacter spp.* Крім того, *Campylobacter* добре пристосований до отримання чужорідних генів стійкості до ліків, включаючи *ermB*, *optrA*, *fexA* та *cfrC*, які зазвичай отримують від грамозитивних бактерій. Широке використання антибіотиків спричинило глобальну епідемію стійких до ліків кампілобактерних інфекцій. Багато країн активно скорочують використання антибіотиків і впроваджують альтернативи у тваринництві та птахівництві, щоб контролювати поширення стійких до ліків *Campylobacter spp.* Відтак, результати [18] засвідчують, що наразі процес боротьби з антибіотиковою резистентністю триває і рішення, наразі, не отримано.

[19], [20], [21], [22], [23], [24] Вчені вбачають причину розвитку глобальної антибіотикової резистентності – забруднення навколишнього середовища бактеріями, що мають гени стійкості до антибіотиків (*antibiotic resistance genes (ARGs)*), що є наслідком діяльності людства. Зазначений механізм розвивається в бактеріях через генетичні зміни або придбання стійких до антибіотиків генів. *ARGs* потрапляють у водні організми через міський стік, аквакультуру, сільське господарство, тваринництво, а також стоки лікарень і очисних споруд. Більшість річкових систем мають відносно високий рівень бактерій, стійких до антибіотиків (*antibiotic-resistant bacteria (ARB)*) (98% від загальної кількості виявлених бактерій), за ними йдуть озера (77% від загальної кількості виявлених бактерій) та ставки та джерела (менше 1%). Ці стійкі бактерії можуть передавати свої гени мікробам, що передаються через воду, які мають такі гени стійкості. Стійкі до антибіотиків мікроорганізми та *ARGs*, знайдені у водоймах, можуть бути шкідливими для людини, якщо їх споживати. *ARB*-інфекції пов'язані зі збільшенням рівня смертності та захворюваності та можуть призвести до смерті 10 мільйонів людей у всьому світі до 2050 року. Таким чином, стійкість до антибіотиків

розвинула глобальну загрозу здоров'ю, яка щороку спричиняє сотні тисяч смертей – Рисунок 4.

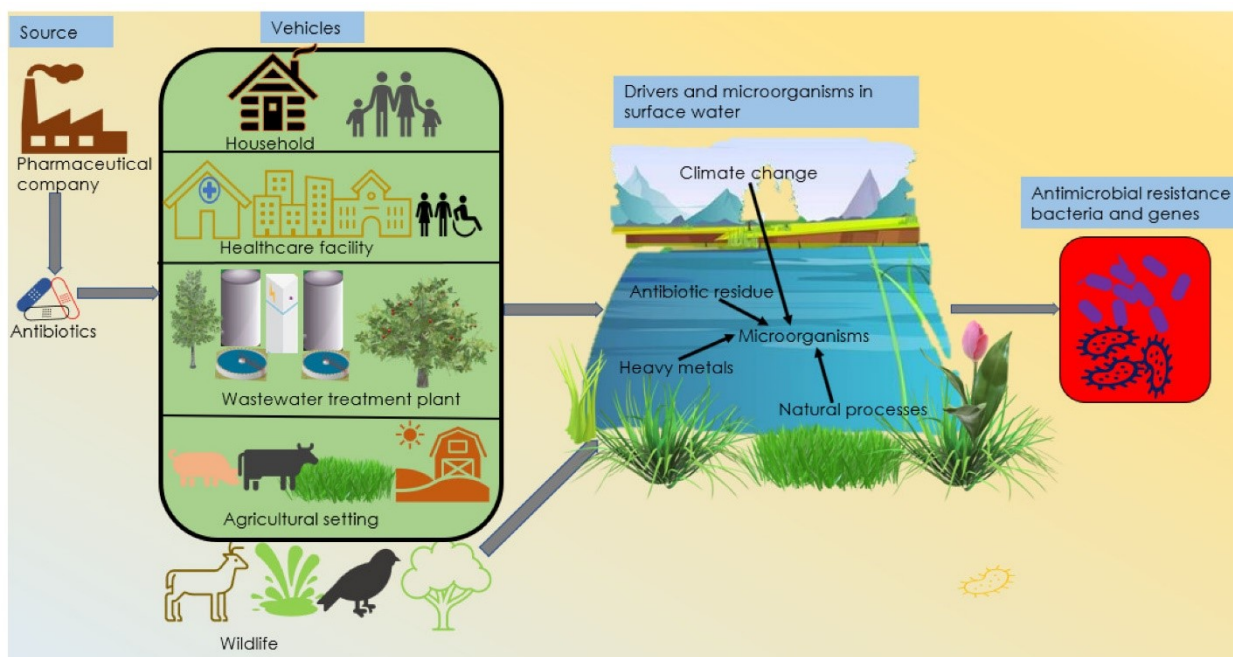


Рисунок 4 – Концепт-схема можливого механізму забруднення навколишнього середовища бактеріями, що мають гени стійкості до антибіотиків (*antibiotic resistance genes (ARGs)*), запропонована у ревалентних наукових працях [19 – 24]

Дослідження J. Bai [25] упорядкувало механізм розвитку резистентності хвороботворних патогенів до типової антибіотикової терапії (на прикладі штамів популяції *Klebsiella pneumoniae bla<sub>KPC</sub>* та *bla<sub>NDM</sub>*) – формування захисної біоплівки, що може бути використана бактеріями як середовище для зараження інструментів та засобів інвазійного лікування та для тривалого перебування в осередках концентрації (лікарні), що в свою чергу призводить до ускладнення терапії та навіть до неефективності лікування. Це дослідження нагадує клініцистам про те, що в лікарнях існують умови формування резистентних штамів бактерій, і що для контролю внутрішньолікарняних інфекцій необхідно вживати більш жорстких заходів – Рисунок 5.

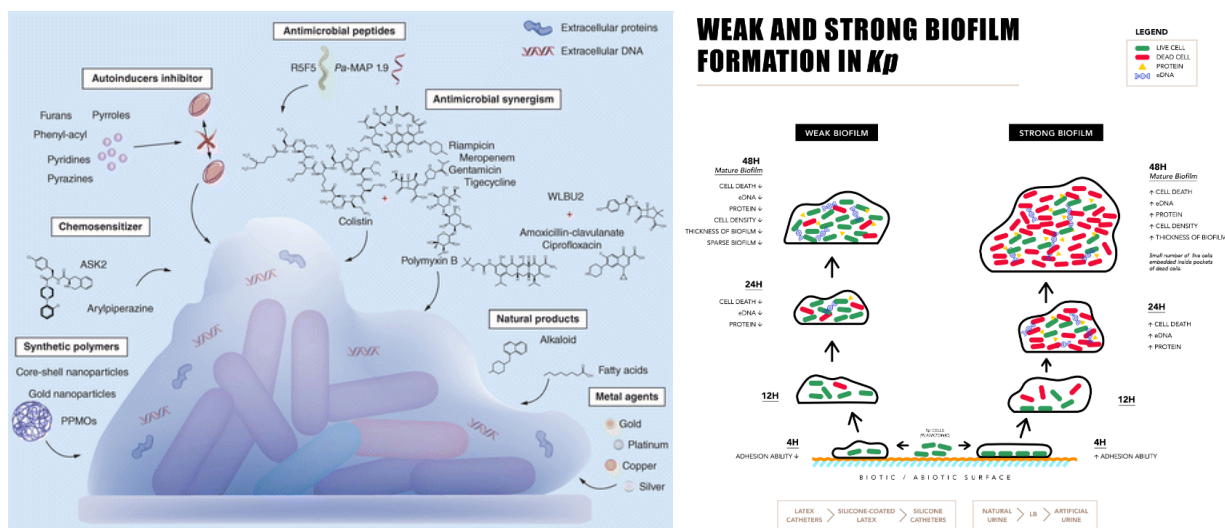


Рисунок 5 – Візуалізація захисного механізму дії біоплівки, утвореної штамів популяції *Klebsiella pneumoniae*  $bla_{KPC}$  та  $bla_{NDM}$ , що встановлені в дослідженні [25]

На підставі отриманих результатів стосовно ревалентних досліджень в актуальному горизонті інформаційного пошуку доходимо наступних висновків:

- глобальна резистентність хвороботворних патогенів є значною загрозою людству, що корелюється з результатами *WHO* [1];
- людство своєю діяльністю сприяє генерації та поширенню бактерій, мутованих до виникнення гену антибіотикової резистентності, що забруднює навколишнє середовище та призводить до повторного інфікування, але вже в значно більших масштабах наслідків;
- протягом медичних вишукувань та навіть на сучасному етапі відбувається постійна адаптація хвороботворних мікроорганізмів до засобів протинфекційної терапії, що засвідчується постійним відкриттям, як окремих видів, так і мутованих штамів бактерій, резистентних до типових протоколів антибактеріального лікування;

- насторожує факт викриття захисних механізмів у патогенів, що призводять до збільшення їх резистентності, інтенсифікації захоплення ареалів та тривалості життя, що є значною загрозою для місць, де власне вживаються антибактеріальні методи терапії, що в такому випадку є вкрай неефективними.

## 1.2 Методи боротьби з антибіотикорезистентністю

*WHO* [1] виділяє проблему стійкості до протимікробних препаратів (*Antimicrobial resistance (AMR)*) як одну з десяти глобальних загроз, що стоять перед людством, здоров'ю населення планети, активувавши при цьому відповідні програми досліджень (Глобальний план дій (ГПД) по боротьбі зі стійкістю до протимікробних препаратів (*Global Action Plan on Antimicrobial Resistance (GAP)*) та спеціальний регламентно-наглядовий орган (Глобальна система з нагляду за стійкістю до протимікробних препаратів (*GLASS*)).

У 2017 році *WHO* [1] опублікувала список із дванадцяти бактерій, які викликали занепокоєння, оскільки всі вони були стійкі до значної кількості антибіотиків, які зараз продаються:

- *Acinetobacter baumannii* (стійкі до карбапенему);
- *Pseudomonas aeruginosa* (стійкі до карбапенему);
- *Enterobacteriaceae* (стійкі до карбапенему,  $\beta$ -лактамази розширеного спектру дії);
- *Enterococcus faecium* (стійкі до ванкоміцину);
- *Staphylococcus aureus* (резистентні до метициліну);
- *Helicobacter pylori* (резистентний до кларитроміцину);
- *Campylobacter spp.* (стійкий до фторхінолонів);
- *Salmonellae* (стійкі до фторхінолонів);
- *Neisseria gonorrhoeae* (стійкі до цефалоспоринів, стійкі до фторхінолонів);

- *Streptococcus pneumoniae* (нечутливі до пеніциліну);
- *Haemophilus influenzae* (стійкі до ампіциліну);
- *Shigella spp.* (стійкі до фторхінолонів).

Шість із них є звичайними нозокоміальними збудниками (*E. faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та *Enterobacter spp.*, які називаються *ESKAPE*), які часто уникають смертельної дії антибіотиків, як підкреслює *IDSA* (*Diseases Society of America*) як репрезентативні парадигми патогенезу, передачі та резистентності.

Контроль антибіотиків та антимікробних препаратів одним з найефективніших методів боротьби зі стійкістю до антибіотиків. Нідерланди та Швеція, де антибіотикотерапія застосовувалася в амбулаторних умовах, є країнами з найнижчими показниками антибіотикорезистентності в Європі. В Англії скорочення рецептів на антибіотики значно пом'якшило і без того зростаючу частоту резистентності до антимікробних препаратів у згодом ідентифікованих інфекціях кровотоку *E. coli*. Програми контролю за використанням антибіотиків (*antibiotic stewardship programs (ASPs)*) можуть зменшити використання антибіотиків, вартість антибіотиків, тривалість лікування та рівень місцевої резистентності до антибіотиків без негативного впливу на смертність пацієнтів, які потребують реанімації. Проте все ще існують певні обмеження, які перешкоджають точному впровадженню антибіотикотерапії. Побоюючись недостатнього охоплення збудника захворювання, лікарі емпірично призначають своїм пацієнтам антибіотики широкого спектру дії. Як наслідок, таке лікування зазвичай триває занадто довго або є занадто широким. Крім того, висока вартість лікування та небажання пацієнта оплачувати витрати на госпіталізацію обмежують застосовність антибіотикотерапії в країнах з низьким і середнім рівнем доходу.

З моменту відкриття О. Флемінгом у 1928 році пеніциліну, першого антибіотика, бактеріальні інфекційні захворювання перестали бути основною

причиною смерті в усьому світі, а середня тривалість життя людини зросла майже вдвічі. Проте резистентність до антибіотиків швидко виникла у багатьох клінічних бактерій, що ставить під загрозу початкову переважну ефективність антибіотиків. Крім того, надмірне та неправильне використання антибіотиків загостило цю проблему стійкості.

Розвиток науково-медичної думки та зокрема стимуляція *WHO* [1] (відповідно до положень (ГПД / *GAP*)) до розвитку методів боротьби з антибіотикорезистентністю дозволила сформуватись широкому спектру можливих рішень: від організаційно-медичного контролю [26], [27], контролю забруднення середовища *ARB*-патогенами [28], [29], розробки нових та адаптації типових антибактеріальних засобів з використання даних про удосконалені механізми протимікробної дії на молекулярному рівні [30], [31], використання антибактеріальних властивостей нанорозмірних оксидів металів [32],[33] до цифропрограмного пошуку і моделювання принципово нових альтернативних лікарських засобів для профілактики і терапії бактеріальних інфекцій [34], [35]

У дослідженні [36] систематизовано використовувані наразі стратегії боротьби з *ARB*-інфекціями (Рисунок 6):

- відкриття нових антибіотиків шляхом модифікації існуючих антибіотиків, скринінг бібліотек малих молекул або дослідження особливих місць;
- підвищення ефективності існуючих антибіотиків шляхом метаболічної стимуляції або шляхом завантаження нових, більш ефективних систем доставки;
- розробка альтернатив звичайним антибіотикам, таким як бактеріофаги та кодовані ними ендолізینی, ліки проти біоплівки, пробіотики, наноматеріали, вакцини та терапія антитілами.

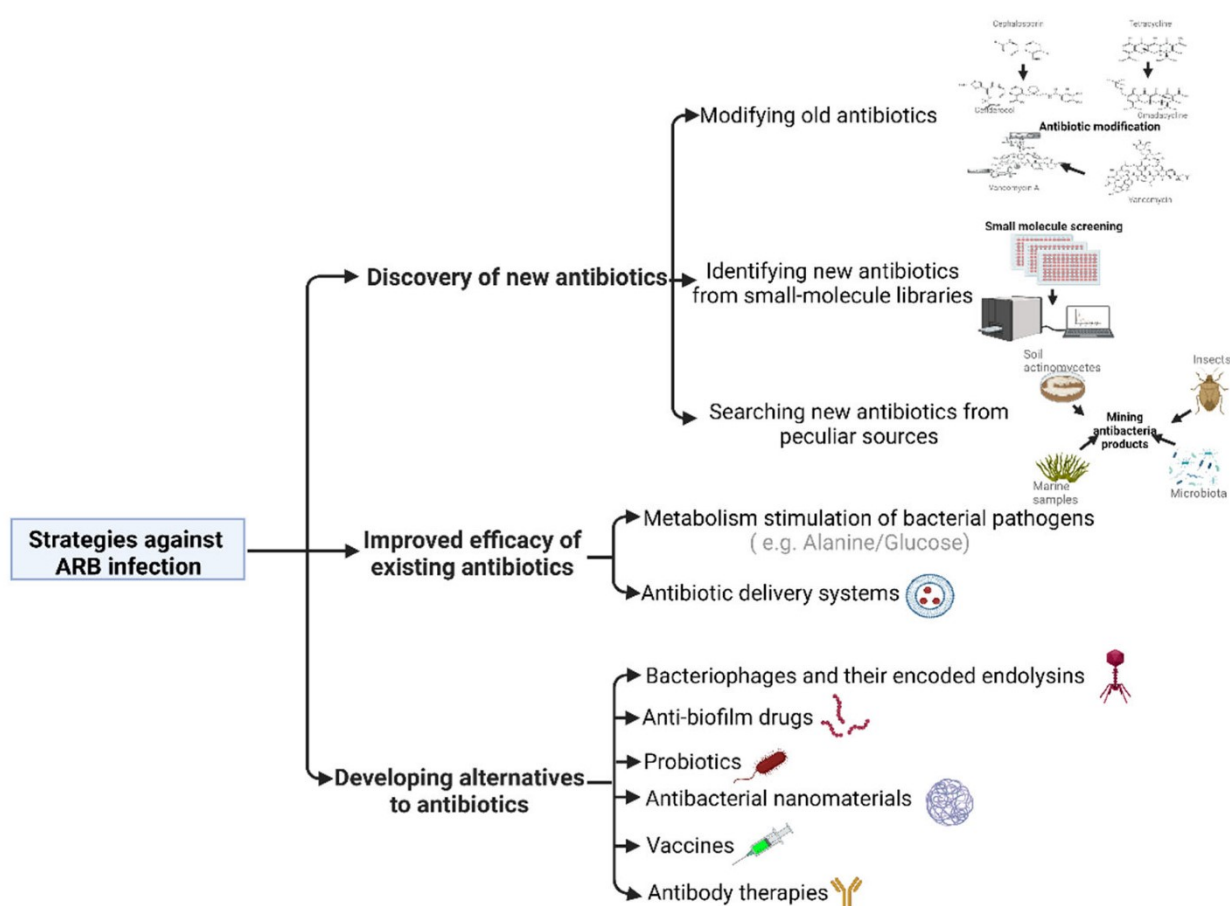


Рисунок 6 – Систематизовані [36] методи боротьби з *ARB*-патогенами

Відповідно до систематизації [36] (Рисунок 6) характеристика методів боротьби з *ARB*-патогенами наступна.

*Відкриття нових антибіотиків (Discovery of New Antibiotics).*

*Модифікація старих (типових) антибіотиків (Modifying Old Antibiotics).* Зміна базової хімічної структури вже існуючого антибіотика може обійти механізми стійкості, розроблені проти нього. Омадациклін, напівсинтетичне похідне тетрацикліну, має модифікації в положеннях С-7 і С-9 D-кільця тетрацикліну (Рисунок 7), що дозволяє йому подолати загальні механізми резистентності до тетрацикліну, включаючи тетрациклін-специфічні ефлюксні насоси та захист рибосом [36 – 41].

*Виявлення нових антибіотиків із бібліотек малих молекул (Identifying New Antibiotics from Small-Molecule Libraries).* Маломолекулярна бібліотека зазвичай містить понад 10 000 синтетично отриманих хімічних сполук, які

відрізняються додатками та своїм молекулярним скелетом. Враховуючи оцінку того, що ймовірність того, що нова молекула стане доступним ліками для пацієнтів, становить лише 1:10 000, використання великих хімічних бібліотек може збільшити ймовірність відкриття нових провідних антибіотиків (Рисунок 7) [36 – 41].

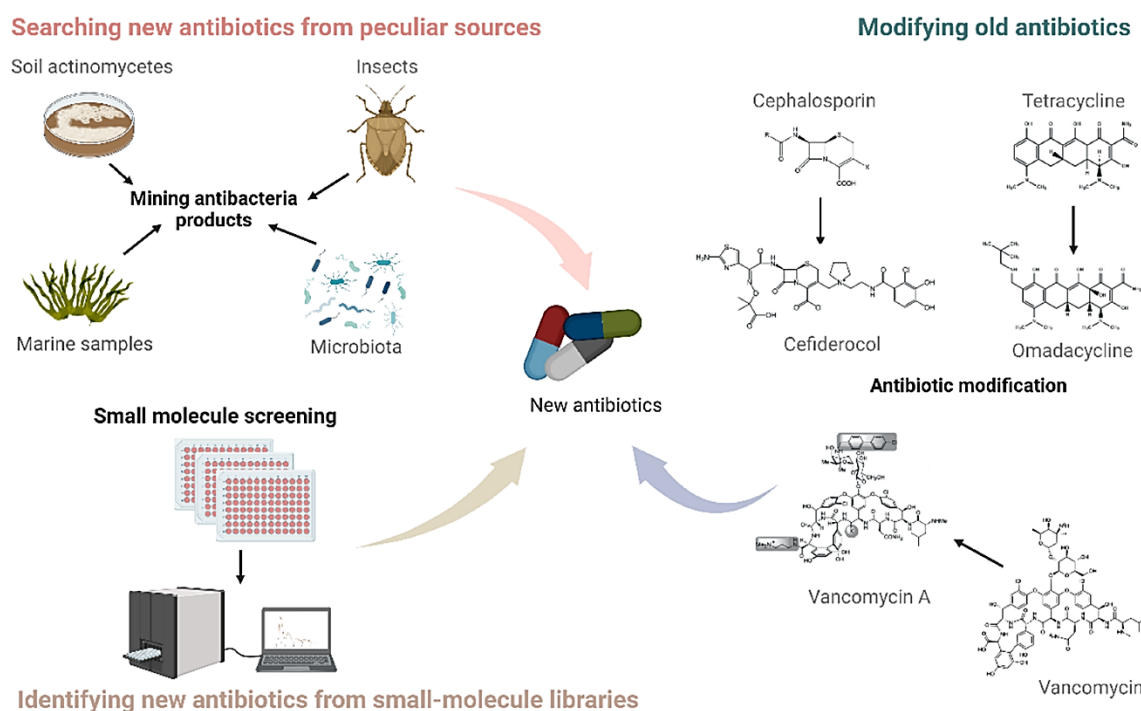


Рисунок 7 – Методи відкриття нових антибіотиків, систематизовані [36]

*Пошук нових антибіотиків із особливих джерел (Searching for New Antibiotics from Peculiar Sources).* Традиційний підхід скринінгу вторинних метаболітів із ґрунтових актиноміцетів призвів до відкриття більшості антибіотиків, які використовуються сьогодні. Однак повторне використання цієї методології призводить до невтішного результату, що більшість виділених активних сполук є вже існуючими антибіотиками або їх аналогами. Таким чином, багато дослідників починають пошук нових антибіотиків із особливих джерел, які включають морські зразки (безхребетні або водорості), безхребетні організми (наприклад, комахи) і мікробіоми (Рисунок 7) [36 – 41].

Покращена ефективність існуючих антибіотиків (Improved Efficacy of Existing Antibiotics).

Стимуляція метаболізму бактеріальних збудників (*Metabolism Stimulation of Bacterial Pathogens*). Виникнення резистентності до антибіотиків переважно є результатом мутацій у генах-мішенях для антибіотиків або передачі генів, стійких до антибіотиків, між бактеріальними збудниками. Дослідження останнього десятиліття виявили, що метаболізм бактерій може сприяти резистентності до антибіотиків. Лікування антибіотиками різко змінює метаболічний стан бактерій, що, у свою чергу, впливає на їхню внутрішню чутливість до шкідливої дії антибіотиків. Крім того, численні дослідження продемонстрували, що модулювання бактеріального метаболізму є надзвичайно дійсним підходом до підвищення ефективності антибіотиків. З цією метою доступні наступні дві регулятивні стратегії на основі метаболізму: (а) посилення метаболічних шляхів, які підвищують чутливість бактерій до антибіотиків, і (б) інгібування метаболічних шляхів, які підвищують стійкість до антибіотиків. Профільні фахівці спостерігали, що резистентний до канаміцину штам *Edwardsiella tarda* мав дефіцит *L*-аланіну та глюкози порівняно зі штамом дикого типу. Ці метаболіти помітно покращили поглинання канаміцину та токсичність через активацію циклу *TCA* та механізм посилення протонної рушійної сили (Рисунок 8) [36 – 41].

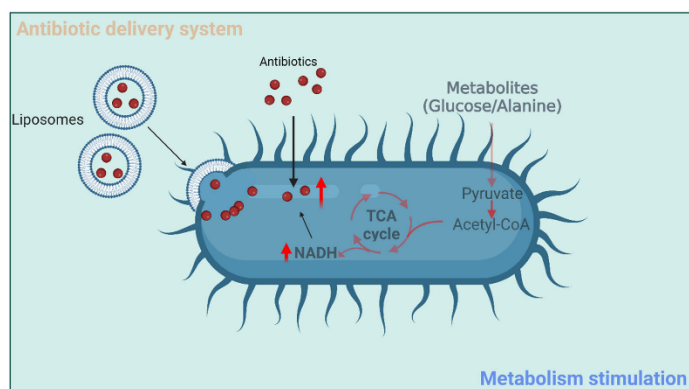


Рисунок 8 – Методи підвищення ефективності сучасних антибіотиків [36]

*Системи доставки антибіотиків (Antibiotic Delivery Systems)*. Недавній розвиток наномедицини дозволив розробити нові системи доставки ліків з покращеним терапевтичним індексом для навантажених сполук. Крім того, деякі наноматеріали мають пряму антибактеріальну дію. Носії наночастинок можуть безпосередньо доставляти антибіотики у внутрішньоклітинне середовище, де ліки не можуть досягти терапевтичних рівнів, і можуть помітно вирішити проблему несприятливих побічних ефектів або токсичності, спричинених високими системними дозами та частим введенням. Синтезовані полімерні наночастинки, що складаються з ковалентно приєднаних  $\beta$ -лактамів, були більш ефективними проти *MRSA* порівняно з чутливим до ліків *S. aureus* [36 – 41].

*Розробка альтернатив антибіотикам (Developing Alternatives to Antibiotics)*.

*Бактеріофаги та кодовані ними ендолізину (Bacteriophages and Their Encoded Endolysins)*. З точки зору лікування бактеріальних інфекцій лікування бактеріофагами (фагами) передувало лікуванню антибіотиками. Фаги – це віруси дуплоднавіру, які можуть лізувати виключно бактерії, не завдаючи шкоди клітинам-хазяїнам (Рисунок 9) [36 – 41].

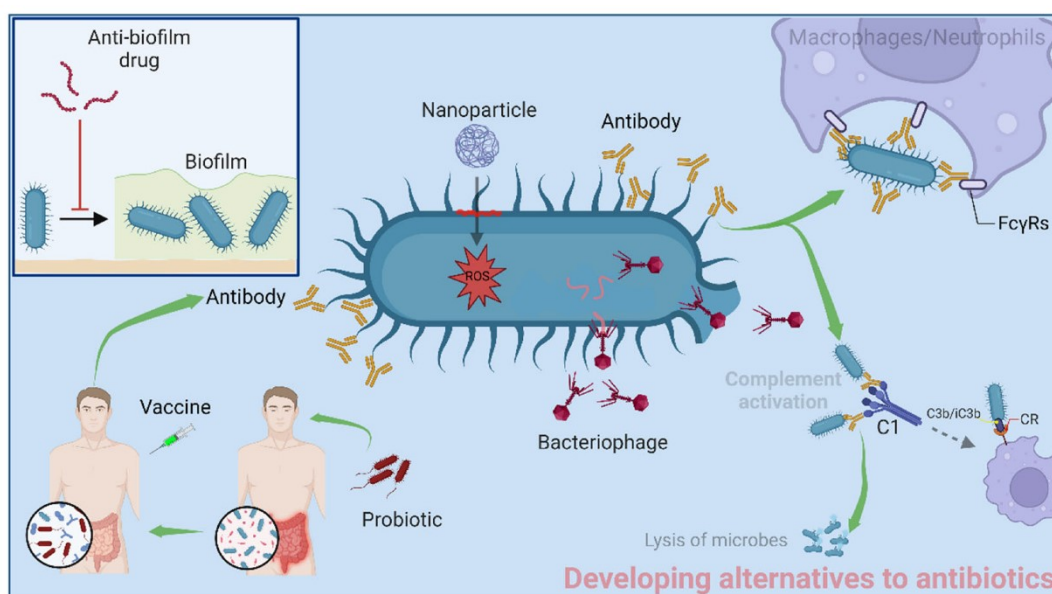


Рисунок 9 – Методи розробки альтернативних антибіотиків [36]

*Препарати проти біоплівки (Anti-Biofilm Drugs).* Біоплівки є загальновідомою проблемою при лікуванні бактеріальних інфекцій. Вони значною мірою перешкоджають проникненню антибіотиків і сприяють розвитку резистентності. Таким чином, інфекції, пов'язані з біоплівкою, неможливо лікувати звичайними антибіотиками. Прикріплення бактерій до поверхні є першим кроком у формуванні біоплівок. Націлювання на початкове прикріплення може бути розумною стратегією запобігання утворенню біоплівки [36 – 41].

*Пробіотики (Probiotics).* Пробіотичні добавки сприймаються у всьому світі як корисна стратегія для здоров'я, незважаючи на відсутність наукових доказів їх передбачуваних ефектів. Сучасні механізми, які пояснюють захисну дію пробіотиків, обмежуються регуляцією імунної системи, посиленням кишкового епітеліального бар'єру, конкуренцією з патогенними бактеріями за поживні речовини та впливом, опосередкованим бактеріоцином [36 – 41].

*Антибактеріальні наноматеріали (Antibacterial Nanomaterials).* Багато наноматеріалів мають притаманну бактерицидну активність через кілька загальноприйнятих механізмів, включаючи реакцію на окислювальний стрес, фізичне руйнування, зміну метаболізму бактерій, денатурацію білка та порушення реплікації ДНК [36 – 41].

*Вакцинація (Vaccines).* Вакцини завжди є першим вибором для запобігання інфекційним захворюванням. Порівняно з відносно простішими вірусами, для бактерій клінічно доступно менше вакцин. Станом на 2019 рік *FDA* схвалила 65 і 32 вакцини для запобігання захворюванням, спричиненим вірусами та бактеріями відповідно. Ці бактерії були *B. anthracis*, *M. tuberculosis*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium tetani*, *H. influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia pestis*, *S. pneumoniae* та *Salmonella typhi*, які не включають нозокоміальних збудників *ESKAPE*. Жодної вакцини проти патогенів *ESKAPE* немає, хоча й не через відсутність спроб, як продемонстрували десятки клінічних випробувань, які поки що провалилися.

У попередніх клінічних випробуваннях вакцинація цілих клітин або клітинних лізатів патогенів, таких як *K. pneumoniae* та *S. aureus*, демонструвала обмежений захист із відносно високою токсичністю [36 – 41].

*Терапія антитілами (Antibody Therapies)*. Антитіла можна використовувати для профілактики та лікування захворювань. На відміну від кількох вищезазначених доступних клінічних вакцин, існує лише три антитіла проти бактеріальних інфекцій, схвалені FDA, дві з яких лікують інфекцію *B. anthracis*, а інша лікує інфекцію *Clostridium difficile*. Усі ці антитіла складаються з людського імуноглобуліну G (IgG) і розпізнають секреторні токсини. Однак багато інших терапій антитілами, націленими на компоненти секреторних токсинів або клітинних оболонок *GGBP* та *GPBP*, не зазнали клінічних випробувань [36 – 41].

У наш час через зростаючу проблему резистентності до антибіотиків розробка нових терапевтичних стратегій проти *ARB* викликає великий інтерес. Хоча певні стратегії, розглянуті вище, продемонстрували багатообіцяючий потенціал у клінічних або доклінічних дослідженнях, складність їх структури та фізіології може захистити бактерії від одноразового лікування. Поєднання цих стратегій і гнучкості в їх використанні може мати більше перспектив для майбутніх анти-*ARB*-терапій. Наприклад, для того, щоб кон'югат антитіло-антибіотик (*DSTA4637S*) знищив внутрішньоклітинні резервуари *S. aureus*, потрібне зв'язування антитіла з *S. aureus*. Однак бактерії, які вже вижили в цитозолі до обробки *DSTA4637S*, все ще важко вбити через просторово неприпустиму взаємодію між *DSTA4637S* і цими цитозольними бактеріями. У цьому випадку інкапсульовані в антибіотики ліпосоми або *OMV* можна використовувати разом з *DSTA4637S* для знищення цих внутрішньоклітинних бактерій. Крім того, антитіло в *DSTA4637S* не має жодної фактичної активності *OPK* і служить лише як стафілококова націлена молекула для антибіотика, щоб знищити внутрішньоклітинний *S. aureus*. Антитіла, які могли б сенсibilізувати патогени, підвищували ефективність антибіотиків і проявляли активність

ОРК, були б кращими. Наприклад, *mAb*, націлені на *MprF*, блокують транслокацію бактеріальних ліпідів і можуть сенсibilізувати антибактеріальні агенти, що вказує на те, що антитіла, які розпізнають мембранні білки, здаються ідеальними кандидатами для запуску як активності ОРК, так і сенсibilізації сучасних антибіотиків [36 – 41].

Як визначено в публікаціях [36 – 41], однією з типових стратегій оптимізації та формування більш ефективних лікарських засобів для протимікробної терапії є модифікація типових антибіотиків, що використовувалися раніше. Одним з таких антибіотичних препаратів є бацитрацин (*Bacitracin*), що винайдений в 1945 році Б. Джонсон (Коледж лікарів і хірургів Колумбійського університету) і класифікується як поліпептидний антибіотик, в основі складу якого суміш споріднених циклічних пептидів, продукованих бактеріальною культурою *Bacillus licheniformis*, яка синтезувала сполуки з антибактеріальними властивостями на тілі М. Трісі. Наразі проводяться пошуки оптимальної рецептури для синтезу бацитрацин на основі різних штамів бактеріальної культури *Bacillus licheniformis* [11 – 15, 42 – 47].

### 1.3 Оптимізація методів синтезу бацитрацин

Поліпептидний антибіотик бацитрацин руйнує грампозитивні бактерії, перешкоджаючи клітинній стінці та синтезу пептидоглікану. Бацитрацин перешкоджає дефосфорилуванню С55-ізопренілпірофосфату та спорідненої молекули, відомої як бактопренолпірофосфат; обидва ці ліпіди функціонують як мембранні молекули-носії, які транспортують будівельні блоки пептидогліканової бактеріальної клітинної стінки за межі внутрішньої мембрани. Бацитрацин є інгібітором протеїн-дисульфід-ізомерази, але це заперечується дослідженнями *in vitro*. Спектр дії досліджуваного антибіотичного препарату [42 – 47]:

- *Staphylococcus aureus* –  $\leq 0,03$  мкг/мл – 700 мкг/мл;

- *Staphylococcus epidermidis* – 0,25 мкг/мл – >16 мкг/мл;
- *Streptococcus pyogenes* – 0,5 мкг/мл – >16 мкг/мл.

Бацитрацин отримують за допомогою нерибосомального пептидного синтезу (*nonribosomal peptide synthetases (NRPS)*), що означає, що рибосоми не беруть безпосередньої участі в його синтезі.

Бацитрацин комерційно виготовляється шляхом вирощування бактерій *Bacillus subtilis var Tracy I* у контейнері з рідким середовищем для росту. Згодом бактерії синтезують антибіотик і виділяють його в середовище. Потім антибіотик екстрагують із середовища за допомогою хімічних процесів. Наразі, найбільш доцільно для продукування бацитрацину використовувати бактеріальну культуру *Bacillus licheniformis* [42 – 47].

Наразі встановлена доцільність використання для синтезу бацитрацину різних штамів бактеріальних культур *Bacillus licheniformis* [11 – 15].

У дослідженні [11] виконується пошук мішеней, які можуть впливати на виробництво бацитрацину на основі секвенування РНК у *Bacillus licheniformis*. Транскрипційний профіль виявив, що (а) експресія гена *bacT*, який кодує тіоестеразу типу II (*TEIbac*), позитивно корелювала з продукцією бацитрацину та (б) поглинання кисню демонструвало значний вплив на синтез попередника. Перевірені експерименти показали, що надекспресія *TEIbac* з ендогенним промотором підвищує титр бацитрацину А на 37,50%. Крім того, збільшення доступності кисню через експресію гемоглобіну *Vitreoscilla (VHb)* збільшило титр бацитрацину А на 126,67% за умов обмеження кисню. З точки зору транскриптому, результати цієї статті демонструють, що *TEIbac* і постачання киснем є вирішальними для виробництва бацитрацину. Це дослідження також дає уявлення про конструкцію клітин шасі для промислового виробництва вторинних метаболітів з перевагою аеробних умов.

Публікація [14] містить результати про оптимізований варіант виробництва бацитрацину шляхом посилення постачання аспарагінової кислоти (*Asp*) у *B. licheniformis DW2*. По-перше, тести на додавання

екзогенного *Asp* показали, що посилення постачання *Asp* сприяє виробленню бацитрацину. По-друге, шляхи синтезу *Asp* були посилені за рахунок надмірної експресії аспартатдегідрогенази *AspD* і аспарагінази *AnsB*, що призвело до отримання рекомбінантного штаму *DW2-ASP2*, а вихід бацитрацину, який продукував *DW2-ASP2*, становив 862,81 Од/мл, збільшившись на 14,05% порівняно з *DW2* (756,49 Од/мл). мл). Потім, щоб покращити накопичення попередника оксалоацетату (*OAA*) для синтезу *Asp*, піруваткарбоксілаза *PucA* та карбоангідраза *EcaA* були спільно надекспресовані в *DW2-ASP2*, а ген яблучного ферменту *mals* був видалений для слабкого переповнення метаболізму трикарбонової кислоти, і отриманий штам *DW2-ASP7* продемонстрував подальше збільшення виробництва бацитрацину з 862,81 до 989,23 Од/мл. Згодом транспортер *YveA* було ідентифіковано як експортер *Asp*, і вихід бацитрацину було збільшено до 1025,26 Од/мл шляхом видалення *yveA*, одержуючи штам *DW2-ASP9*. Нарешті, ген аміачно-ліази *Asp aspA* був порушений, щоб послабити деградацію *Asp*, і вихід бацитрацину отриманого штаму *DW2-ASP10* досяг 1059,86 Од/мл, збільшившись на 40,10% порівняно з *DW2*. У сукупності це дослідження продемонструвало, що метаболічна інженерія метаболічних модулів *Asp* є ефективною стратегією для посилення виробництва бацитрацину, і ці стратегії також можуть бути застосовані у виробництві інших пептидних метаболітів.

В дослідженні [48] встановлено, що *Bacillus subtilis*, який, як відомо, є продуцентом бацитрацину, був виділений із ґрунту та ідентифікований. Ізолят використовували для отримання бацитрацину в різних умовах культивування з пептонною водою, яка служила базальним середовищем для ферментації. Отриманий неочищений бацитрацин перевіряли на його антимікробну активність проти *Staphylococcus aureus* за допомогою методу дифузії в агарі. Умови культивування варіювалися: додавання гліцерину, арабінози, фруктози, манози, сахарози, сечовини,  $MgSO_4$ ,  $CaCO_3$ ,  $KCl$ , цитрату натрію та коригування початкового рН на рН 5, 6, 8 і 9. Виробництво

бацитрацину здійснювалося при 37 °С протягом 4 днів в орбітальному шейкері-інкубаторі, що обертається зі швидкістю 150 об/хв. Антимікробну активність проти досліджуваного мікроорганізму (*Staphylococcus aureus*) визначали за мм зони інгібування, при цьому найкращий результат було отримано при додаванні гліцерину (14 мМ), а найменшу зону інгібування спостерігали при додаванні MgSO<sub>4</sub> (3 мМ). Крім того, рН 8 дало найкращий результат (20 мм), тоді як при рН 5 антимікробна активність неочищеного бацитрацину була знижена (14 мм). Бацитрацин, отриманий з *Bacillus subtilis* в різних умовах культивування, має антимікробну дію проти *Staphylococcus aureus*. Найвищу антимікробну активність можна досягти шляхом додавання гліцерину та підвищення початкового рН основного бульйону до рН 8, тоді як бульйон, отриманий додаванням MgSO<sub>4</sub>, матиме найменший антимікробний ефект.

L. Li [49] встановив, що недостатнє надходження амінокислот-попередників може бути важливим фактором, який перешкоджає високому мікробному виробленню бацитрацину. Був досліджений вплив посилення постачання *L*-цистеїну на виробництво бацитрацину промисловим виробником бацитрацину *Bacillus licheniformis* DW2. Надмірна експресія *cysK*, що кодує *L*-цистеїнсинтазу, призвела до збільшення титру бацитрацину на 9,17%. Крім того, надмірна експресія *cysE*, що кодує *L*-серинацетилтрансферазу, і *cysP*, що кодує тіосульфат/сульфатний внутрішньоклітинний транспортер, підвищувала титри бацитрацину на 7,23% і 8,52% відповідно. Крім того, надмірна експресія ймовірного імпортера цистину *TcyP* призвела до збільшення внутрішньоклітинного *L*-цистеїну на 29,19%, а титр бацитрацину збільшився на 7,79%. Згодом сильний промотор *PbacA* був використаний для заміни промоторів генів *cysP*, *cysE* і *tcyP* у штамі DW2::*cysK* відповідно. Отриманий штам *CYS4* (DW2::*cysK-PbacA*-(*cysP*)-*PbacA*(*cysE*)-*PbacA*(*tcyP*)) продукував 910,02 Од/мл бацитрацину, що було на 21,10% вище, ніж вихідний штам DW2 (747,71 Од/мл) Разом з експериментами в ферментерах об'ємом 3 л це дослідження

продемонструвало, що посилення внутрішньоклітинного надходження *L*-цистеїну є ефективною стратегією збільшення виробництва бацитрацину *B. licheniformis*.

У. Рао [50] повідомляє, що *Bacillus licheniformis DW2* є важливим промисловим штамом для виробництва бацитрацину, він також використовується для біохімічного виробництва, однак відсутність ефективного інструментарію для точного регулювання експресії генів точного регулювання експресії генів серйозно перешкоджає його застосуванню. В межах дослідження сконструйована бібліотека промоторів міцності градієнта на основі кластерного промотора гена бацитрацинсинтетази *PbacA*. По-перше, різні варіанти промоторів *PbacA* були сконструйовані шляхом з'єднання *PbacA* з різними 5'-UTR, і серед цих промоторів було досягнуто діапазонів експресії 32,6-741,8%. Потім три промотори, *PUBay* (сильний), *PbacA* (середній) і *PUndh* (найслабший), були застосовані для аналізів експресії червоного флуоресцентного білка (*RFP*) і кератинази, і було доведено, що ці промотори мають хорошу універсальність для різних білків. По-друге, промотор кластера генів бацитрацинсинтетази був замінений цими трьома промоторами, і титр бацитрацину підвищився на 14,62% при застосуванні *PUBay*, який знизився на 98,05% за посередництва *PUndh* порівняно з титром вихідного штаму *DW2*. По-третє, промотори *PUBay*, *PUyvgO* та *PUndh* були обрані для регулювання рівнів експресії критичних генів, які відповідають за синтез пухеримінової кислоти, і вихід пухеримінової кислоти було збільшено на 194,1% шляхом маніпулювання синтетичними та конкурентними шляхами. Нарешті, промотори *PUBay*, *PbacA* і *PUndh* були застосовані для експресії зеленого флуоресцентного білка (*GFP*) і *RFP* в *Escherichia coli*, і на основі наших результатів були досягнуті послідовні ефекти. Таким чином, у цьому дослідженні була створена бібліотека промоторів градієнтної сили, яка забезпечила ефективний набір інструментів для тонкої настройки експресії генів і перепрограмування метаболічного потоку метаболітів у *B. licheniformis*.

На підставі аналізу ревалентних наукових праць в актуальному горизонті пошуку встановлені наступні аспекти:

- бацитрацин – один з найпоширеніших та найуживаніших у медичній практиці антибіотиків місцевого зовнішнього застосування, що наразі потребує модернізації технології виробництва в рамках методів боротьби з антибіотикорезистентністю;
- початково бацитрацин вироблявся з бактеріальних культур-продуцентів *Bacillus subtilis var Tracy I*, наразі для промислового виробництва досліджуваного препарату антибіотичного спектру дії доцільно застосовувати *Bacillus licheniformis*;
- найбільш продуктивним штамом даної бактеріальної культури є штам *Bacillus licheniformis DW2*;
- оптимізація та модернізація бактеріального продуценту бацитрацину *Bacillus licheniformis DW2* здійснюють для підвищення здатності до продукування та посилення антибактеріальних властивостей, що здійснюється шляхом секвенування, рекомбінації та точного регулювання експресії генів, а також модернізації механізму постачання аспарагінової кислоти (*Asp*) та *L*-цистеїну з результируючим підсилюючим ефектом до продукування цільового антибіотику.

Таким чином, встановлено, що для промислового виробництва бацитрацину доцільно використовувати штам бактеріальної культури *Bacillus licheniformis DW2*, відповідно до чого існує необхідність встановлення економічно ефективних методів синтезу цільового бактеріального продуцента.

## РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

### 2.1 Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи

На основі останніх досліджень можна помітити що найбільш широко досліджується бацитрацин як метаболіт бактерій роду *Bacillus*, саме тому надалі будуть розглядатися продуценти даного метаболіту.

У публікації Q. Wang [66] представлені результати дослідження використання недорогих побічних продуктів сільського господарства таких як соєвий шрот, низькобілкова ріпакова макуха, рибна мука, арахісова макуха, кунжутна олія в різних концентраціях та комбінаціях на біосинтез бацитрацину штамом *B. licheniformis DW2*. Було встановлено найбільш ефективним в збільшенні виходу бацитрацину використання в середовищі культивування комбінацію 7% соєвого шроту з 2% низькобілкової ріпакової макухи, за яких було досягнуто кінцевої концентрації бацитрацину в середовищі культивування – 13,38 г/л. Концентрація бацитрацину зросла на 12,4% в ферментері об’ємом 50 л.

У дослідженні J. Zhu [67] описується вплив транскрипційного фактору *Lrp* і транспортеру *BCAA BrnQ* на розподіл *BCAA* (амінокислот з розгалуженим ланцюгом) і вироблення бацитрацину. Для цього дослідниками були використані штами дикого типу (штам промислового виробництва бацитрацину) - *B. licheniformis DW2*, створені рекомінантні штами з надекспресією генів *Lrp* і *BrnQ* - *B. licheniformis Lrp DW2/pHY-lrp* та *B. licheniformis DW2/pHY-BrnQ*, контрольний штам з плазмідною без вставки генів *B. licheniformis DW2/pHY300*, та штами з делеціями генів

|            |             |                    |               |             |  |                    |             |                 |
|------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|--|--------------------|-------------|-----------------|
|            |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>                            |                    |             |                 |
| <b>Змн</b> | <b>Арк.</b> | <b>№ документа</b> | <b>Підпис</b> | <b>Дата</b> | <b>РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-<br/>ЕКОНОМІЧНЕ<br/>ОБҐРУНТУВАННЯ</b> | <b>Літ.</b>        | <b>Арк.</b> | <b>Акрівшів</b> |
| Розроб     |             | Волошин            |               |             |  |                    | 30          | 24 32           |
| Перевір.   |             | Воронцов           |               |             |  | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                 |
| Консульта  |             |                    |               |             |  |                    |             |                 |
| Н. Контр.  |             |                    |               |             |  |                    |             |                 |
| Затверд.   |             | Стабніков          |               |             |  |                    |             |                 |

*Lrp* - *B. licheniformis* *DW2Δlrp* та *brnQ* *B. licheniformis* *DW2ΔbrnQ*. В результаті 48 годинного культивування вихід бацитрацину для промислового штаму *B. licheniformis* *DW2* склав 11,59 г/л, тоді як для штаму *B. licheniformis* *DW2/pHY300* – 10,44 г/л, що на 10,42% нижче. Автори пояснюють таке зменшення виходу з тим, що існування плазмід посилювало підтримку метаболічної коефективності бактерій. Крім того, видалення гену *Lrp* покращило виробництва бацитрацину для штаму *B. licheniformis* *DW2Δlrp* до значення 13,30 г/л, збільшившись на 14,71%. Тоді як в штамі з надекспресією *Lrp* *B. licheniformis* *DW2/pHY-lrp* вихід бацитрацину зменшився на 15,57% порівняно з *B. licheniformis* *DW2/pHY300* і склав 9,16 г/л, а штам комплементарії *Lrp* *B. licheniformis* *DW2Δlrp/pHY-lrp* продукував 10,22 г/л бацитрацину, що на 11,56% більше порівняно з *DW2/pHY-lrp*. Це дало розуміння того, що регулятор *Lrp* негативно впливає на синтез бацитрацину в *B. licheniformis* *DW2*. Окрім того, показано, що штам *B. licheniformis* *DW2ΔbrnQ* виробляє 9,47 г/л бацитрацину, що зменшується на 13,76% порівняно з *DW2*, а надмірна експресія *BrnQ* призвела до збільшення виходу бацитрацину на 11,92%. Крім того, вихід бацитрацину 10,50 г/л був досягнутий штамом комплементарії *BrnQ* *B. licheniformis* *DW2ΔbrnQ/pHY-brnQ*, що було на 10,18% нижчим, ніж у штаму надекспресії *BrnQ* *B. licheniformis* *DW2/pHY-brnQ*. Крім того, було створено надекспресію *BrnQ* інтеграції *B. licheniformis* *DW2::BrnQ*, і результати ферментації означали, що *B. licheniformis* *DW2::BrnQ* виробляє 12,80 г/л бацитрацину, що збільшується на 10,43% порівняно з *DW2*. У сукупності ці результати вказують на те, що надмірна експресія *BrnQ* сприяє синтезу бацитрацину в *B. licheniformis* *DW2*. На основі цих даних було створено штам з надекспресією бацитрацину, який може бути перспективний для промислового виробництва – *B. licheniformis* *DW2Δlrp::BrnQ* з результатом синтезу 14,19 г/л, що збільшилося на 22,42 порівняно з *B. licheniformis* *DW2*.

В публікації D. Cai [68] представлені результати дослідження впливу додавання та внутрішньоклітинного синтезу *S*-Аденозилметіоніну (*SAM*) у біосинтезі бацитрацину у *B. licheniformis*. В якості вихідного штаму для досліджень було також використано штам *B. licheniformis DW2*. Перш за все в ході роботи було встановлено, що екзогенне додавання *SAM* в концентрації 40 мг/л сприяє збільшенню виходу бацитрацину на 12,14%. Окрім того, були досліджені рекомбіновані штами з надсинтезом *SAM* і метіонін (*Met*) синтетаз, в результаті яких отриманий штам з їх комбінацією *B. licheniformis DW2-KE* показав збільшення виходу бацитрацину на 13,08 %, та склав 12,34 г/л. Окрім того, подальше збільшення виходу бацитрацину було пов'язано з ідентифікацією транспортерів *MetN* і *MetP* як *Met*-експортеру та імпортеру, і відповідно видаленням *metN* і надмірної експресії *metP* в штамі *B. licheniformis DW2-KE*, з створенням нового штаму *B. licheniformis DW2-KENP*, як результат вихід бацитрацину збільшений на 5,94% до 13,07 г/л. Наступним кроком були видалені гени нуклеозидази *SAMmntN* і декарбоксилази *SAM speD*, щоб блокувати шляхи деградації *SAM*, і вихід бацитрацину результуючого штаму *DW2-KENPND* досяг 14,08 г/л, збільшившись на 28,97% порівняно з *DW2*.

У дослідженні Q. Zhang [69], видаливши ген цитохром *bd* оксидази *cydB* у *B. licheniformis DW2* підвищили титр бацитрацину порівняно з вихідним штамом на 10,97%. В подальшому посилення синтезу цитохром *aa3* оксидази через надекспресію гена *qoxA* сприяло підвищенню синтезу бацитрацину на 18,97%. В додаток посиливши постачання синтезу АДФ шляхом надмірної експресії аденозинкінази *DcK* збільшився і титр бацитрацину на 16,78%. Поєднавши делецію гену *cydB*, з надекспресією *qoxA* та *DcK* разом з підвищенням вмісту АТФ в клітинах до 39,54 нмоль/л, збільшеного на 49,32% порівняно з вихідним штамом, збільшений синтез бацитрацину кінцевим штамом *B. licheniformis DW2-CQD* (*DW2ΔcydB::qoxA::dck*) становив 14,03 г/л, що на 21,66% більше порівняно з вихідним штамом.

Виходячи з результатів досліджень S. Zhu [70], встановлено, що генетичний апарат штаму *B. licheniformis DW2* можна також змінювати в розрізі посилення генів шляху НАДФН<sup>+</sup> (*zwf, gnd, ppnk, pntAB* і *udhA*), а штам надекспресії глюкозо-6-фосфатдегідрогенази *Zwf B. licheniformis DW2::Zwf* показав найкращу продуктивність, вихід бацитрацину для якого (13,03 г/л) збільшився на 12,43% порівняно з *B. licheniformis DW2* (11,59 г/л).

У дослідженні F. Wu [71] шляхом екзогенного внесення лізину змогли підвищити рівень біосинтезу бацитрацину штамом *B. licheniformis DW2*, окрім того було створено рекомбінантний штам *B. licheniformis DW2 LYS2* здатний до надекспресії генів діамінімелатдекарбоксілази *LysA*, діамінімелатдегідрогенази *DdH*, та глютаміну. Зокрема виробництво *B. licheniformis DW2 LYS2* збільшилося до 12,33 г/л на 10,85%, порівняно з *DW2* (756,45 ОД/мл). Окрім того, повідомляється що оксалоацетат як попередник лізину був накопичений через надекспресію гену піруваткарбоксілази *PucA* в *B. licheniformis DW2 LYS2*, а збільшення виходу бацитрацину на 17,06 % було досягнуто в *B. licheniformis DW2 LYS3* 13,02 г/л порівняно з *B. licheniformis DW2*. Також, в подальших змінах ген лізиндекарбоксілази *uaaO* був видалений, щоб послабити деградацію *Lys*, а досягнутий штам *B. licheniformis LYS4* показав подальше збільшення виробництва бацитрацину з 13,02 до 13,57 г/л. В дослідженні, було підтверджено, що транспортний ген *LysE* виступає в якості експортера, а гени *Lys; LysP* і *YvsH* були ідентифіковані як імпортери лізину у *B. licheniformis DW2*, а вихід бацитрацину був збільшений до 14,34 г/л на 28,95% у кінцевому штамі з *B. licheniformis LYS5* за допомогою інженерії переносників *Lys*.

В дослідженні S. Ali [72] оптимізували біосинтез бацитрацину шляхами впливу мутагенних факторів, субстратами поживного середовища, розміром і віком інокуляту, умовами біосинтезу (швидкість перемішування, рН, температура, тривалість культивування, розчинений кисень), вмістом хлориду цинку, карбонатом кальцію та рН при виділенні бацитрацину, розміру ферментеру та деяких інших умов. В дослідженні використовувався

мутантний штам *B. licheniformis* PCSIR-410-(5) який був одержаний шляхом впливу ультрафіолетового випромінювання протягом 25 хв штаму *B. licheniformis* PCSIR-410. Для цього штаму відмічається найбільший бацитрацину з поміж випробуваних штамів з часом обробки в межах від 5 до 40 хв і складає 3,45 г/л. Подальша оптимізація стосувалася субстрату і найбільший вихід (4,42 г/л) спостерігався за вмісту 0,45% соєвого борошна. Дослідження віку і дози внесення інокуляту має найкращі результати синтезу антибіотику 3,05 г/л та 3,45 г/л при використанні 10% інокуляту та віком 24 години відповідно. Встановлено що максимальний вихід бацитрацину спостерігається за наступних умов біосинтезу – вміст розчиненого кисню - 20% (4,42 г/л), швидкість аерації – 400 об/хв (2,47 г/л), рН 7,0 (1,64 г/л), температура - 35°C (3,05 г/л) та за 48-годинного культивування (208 од/мл). Також максимальний вихід антибіотику спостерігається за використання при виділенні бацитрацину хлориду цинку в концентрації 1 г/100мл культуральної рідини (209 од/мл), карбонату кальцію - 0,5 г /100мл культуральної рідини (2,41 г/л), рН 3,5 (2,42 г/л), та температури 37°C (2,41 г/л). Тоді як щодо вибору об'єму ферментеру найкращий вихід спостерігався для 2 л ємності – 1,41 г/л, і зменшувався зі збільшенням розмірів до 10 і 30 л відповідно до значень 1,38 і 1,14 г/л.

На підставі наданого вище аналітичного огляду встановлено, що основні напрями виділення нових штамів з синтезом біосурфактантів з антибактеріальною та протимікозною активністю, підвищення біосинтетичної здатності штаму *B. licheniformis* до синтезу бацитрацину, пошуком методів для надсинтезу ігурину А та оптимізацією технології його виробництва штамми різних видів роду *Bacillus*, розробкою технології пептиду цзяна, здешевлення технологій синтезу шляхами використання субстратів-відходів різних виробництв та оптимізації поживних середовищ.

Виокремимо результати синтезу бацитрацину з задіяного ландшафту профільних публікацій.

Основним представником який розглядається як штам виробництва бацитрацину є *B. licheniformis DW2*. В джерелі, де повідомляється про вихід 13,38 г/л бацитрацину автори використовували комбінацію 7% соєвого шроту з 2% низькобілкової ріпакової макухи як єдині складові ферментаційного середовища [66].

Наступним продуцентом є штам *B. licheniformis DW2 $\Delta$ lrp::BrnQ* з кінцевою концентрацією 14,19 г/л бацитрацину. Штам надпродуцент було одержано шляхом делеції гену транскрипційного фактору *Lrp* та надекспресією гену транспортеру *BCAA* (амінокислот з розгалуженим ланцюгом) *BrnQ* [67]

Далі на черзі для порівняння обрано штам *B. licheniformis DW2-KENPND* одержаний видаленням генів нуклеозидази *SAMmtnN* і декарбоксилази *SAMspeD*, щоб блокувати шляхи деградації *SAM* (*S*-Аденозилметіоніну), видаленням *metN* і надмірної експресії *metP* як *Met*-експортеру та імпортеру (метіонін (*Met*)). Ці маніпуляції з бактеріальним геномом дозволяють одержати бацитрацин в концентрації 14,03 г/л [68].

Штам *B. licheniformis DW2-CQD* відмічається надсинтезом цитохром *aa3* оксидази надекспресією гена *qoxA*, посиливши постачання синтезу АДФ шляхом надмірної експресії аденозинкінази *DcK*, та делецією гену ген цитохром *bd* оксидази *cydB*. Це призвело до досягнення концентрації бацитрацину 14,03 г/л [69].

Інший штам *B. licheniformis DW2::Zwf* показує вихід бацитрацину 886,43 од/мл за рахунок надекспресії гену глюкозо-6-фосфатдегідрогенази *Zwf* [70].

Наступним штамом надпродуцентом є з *B. licheniformis LYS5* який синтезує бацитрацин в концентрації 14,34 г/л. Модифікація штаму здійснювалася шляхом надекспресії гену діамінпімелатдекарбоксилази *LysA*, діамінпімелатдегідрогенази *DdH*, глютаміцину, через надекспресією гену піруваткарбоксилази *PucA*, видаленням гену лізиндекарбоксилази *uaaO*,

пригніченням транспортного гену *LysE* що бере участь в експорті лізину, та посиленні генів відповідальних за імпорту лізину *Lys*, *LysP* і *YvsH* [71].

Останнім штамом який розглядається є мутантний штам *B. licheniformis* PCSIR-410-(5) одержаний шляхом впливу ультрафіолетового випромінювання протягом 25 хв. За культивування на оптимізованому середовищі спостерігається максимальний вихід бактеріоцину – 4,42 г/л [72].

Порівняння показників біосинтезу бацитрацину різними штамми – 1 [66 – 72].

Таблиця 1 – Порівняння показників біосинтезу бацитрацину різними штамми [66 – 72]

| Біологічний агент                                       | Склад поживного середовища для біосинтезу, г/л   | Режим культивування               | Час біосинтезу, год | Вихід бацитрацину, г/л | Посилання |
|---|--|-----------------------------------|---------------------|------------------------|-----------|
| 1   | 2  | 3                                 | 4                   | 5                      | 6         |
| <i>B. licheniformis</i> DW2                             | соєвий шрот - 70<br>низькобілкова<br>рпаківа макуха - 20   | 1,2 об/об/хв<br>300 об/хв<br>37°C | 34                  | 13,38                  | [66]      |
| <i>B. licheniformis</i> DW 2Δ <i>lrp</i> :: <i>BrnQ</i> | соєве борошно - 100,<br>крохмаль - 45,<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1<br>CaCO <sub>3</sub> - 6 | 230 об/хв<br>37 °C                | 48                  | 14,19                  | [67]      |
| <i>B. licheniformis</i> D W2-KENPND                     | соєве борошно - 100,<br>крохмаль - 45,<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1<br>CaCO <sub>3</sub> – 6 | 230 об/хв<br>37 °C                | 48                  | 14,08                  | [68]      |
| <i>B. licheniformis</i> DW2-CQD                         | соєве борошно - 100,<br>крохмаль - 45,<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1<br>CaCO <sub>3</sub> – 6 | 230 об/хв<br>37 °C                | 48                  | 14,03                  | [69]      |
| <i>B. licheniformis</i> DW2::Zwf                        | соєве борошно - 100,<br>крохмаль - 45,<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1<br>CaCO <sub>3</sub> – 6 | 230 об/хв<br>37 °C                | 48                  | 13,03                  | [70]      |
| <i>B. licheniformis</i> LYS5                            | соєве борошно - 100,<br>крохмаль - 45,<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 1<br>CaCO <sub>3</sub> – 6 | 230 об/хв<br>37 °C                | 48                  | 14,34                  | [71]      |
| <i>B. licheniformis</i> PCSIR-410-(5)                   | соєве борошно- 45<br>крохмаль - 5,<br>цитрат – 1<br>CaCO <sub>3</sub> – 4  | pH – 7,0<br>400 об/хв<br>35°C     | 48                  | 4,42                   | [72]      |

Згідно даними, наведеними в Таблиця , штами *B. licheniformis* DW2  $\Delta$ lrp::*BrnQ*, *B. licheniformis* DW2-KENPND, *B. licheniformis* DW2-CQD, *B. licheniformis* DW2::*Zwf*, *B. licheniformis* LYS5 не відрізняються за умовами культивування, тому серед них обираємо штам з найбільшим виходом для подальшого порівняння – 975,43 од/мл для штаму *B. licheniformis* LYS5. Окрім того, штам *B. licheniformis* PCSIR-410-(5) має найгірший вихід бацитрацину порівняно з іншими штамми, а промисловий штам *B. licheniformis* DW2 – найвищий.

Наступним кроком обґрунтування вибору біологічного агенту у промисловому випуску бацитрацину є економічні фактори, а саме вартість поживного середовища для кожного продуценту – Таблиця .

Таблиця 2 – Розрахунок та порівняння вартості поживних середовищ для культивування біологічних агентів [66 – 72]

| Продуцент                             | Компонент поживного середовища, г/л                 | Ціна компонента (на січень 2023), грн/кг | Вартість компонента (грн) на 1 л середовища | Посилання на джерело                                 |
|---------------------------------------|---|--|---|--|
| 1                                     | 2   | 3  | 4   | 5  |
| <i>B. licheniformis</i> DW2           | соєвий шрот - 70                                    | 14                                       | 0,98  | <a href="http://cutt.ly/J9IsabK">cutt.ly/J9IsabK</a> |
|                                       | низькобілкова ріпакова макуха - 20                  | 15                                       | 0,30  | <a href="http://cutt.ly/R9Isd0h">cutt.ly/R9Isd0h</a> |
|                                       | Вартість 1 л поживного середовища – 1,28 грн        |  |   |  |
| <i>B. licheniformis</i> LYS5          | соєве борошно - 100                                 | 25                                       | 2,50  | <a href="http://cutt.ly/B9IsgCO">cutt.ly/B9IsgCO</a> |
|                                       | крохмаль - 45                                       | 25                                       | 1,13  | <a href="http://cutt.ly/p9IsjV6">cutt.ly/p9IsjV6</a> |
|                                       | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> - 1 | 20                                       | 0,02  | <a href="http://cutt.ly/h9IszUd">cutt.ly/h9IszUd</a> |
|                                       | CaCO <sub>3</sub> - 6                               | 50                                       | 0,30  | <a href="http://cutt.ly/s9IsnpV">cutt.ly/s9IsnpV</a> |
|                                       | Вартість 1 л поживного середовища – 3,95 грн        |  |   |  |
| <i>B. licheniformis</i> PCSIR-410-(5) | соєве борошно - 45                                  | 25                                       | 1,13  | <a href="http://cutt.ly/B9IsgCO">cutt.ly/B9IsgCO</a> |
|                                       | крохмаль - 5  | 25                                       | 0,13  | <a href="http://cutt.ly/p9IsjV6">cutt.ly/p9IsjV6</a> |
|                                       | цитрат - 1  | 230                                      | 0,23  | <a href="http://cutt.ly/t9IsEW6">cutt.ly/t9IsEW6</a> |
|                                       | CaCO <sub>3</sub> - 4                               | 50                                       | 0,20  | <a href="http://cutt.ly/s9IsnpV">cutt.ly/s9IsnpV</a> |
|                                       | Вартість 1 л поживного середовища – 1,69 грн        |  |   |  |

Техніко-економічне порівняння бактеріальних продуцентів бацитрацину – Таблиця [66 – 72].

Таблиця 3 – Техніко-економічне порівняння бактеріальних продуцентів бацитрацину [66 – 72]

| Параметри  | Продуценти                     |                                 |  |
|--|--------------------------------|---------------------------------|--|
|  | <i>B. licheniformis</i><br>DW2 | <i>B. licheniformis</i><br>LYS5 | <i>B. licheniformis</i><br>PCSIR-410-(5) |
| 1  | 2                              | 3                               | 4  |
| Вихід бацитрацину, г/л                             | 13,4                           | 14,34                           | 4,42                                     |
| Вартість 1 л середовища, грн                       | 1,28                           | 3,95                            | 1,69                                     |
| Умовна вартість цільового продукту грн/г           | 0,095                          | 0,275                           | 0,381                                    |
| Тривалість культивування, год                      | 34                             | 48                              | 48                                       |
| Кількість утвореного антибіотику за годину, од/год | 26,78                          | 20,32                           | 6,27                                     |

Згідно з результатами (Таблиця ) спостерігаємо, що штам *B. licheniformis* DW2 є найбільш вигідним серед представлених штамів як за умовною вартістю бацитрацину – 0,0014 грн/од, так і має найбільший вихід в одиницю часу 26,78, тоді як штам *B. licheniformis* LYS5 має дещо гірші показники – 0,0041 грн/од та 20,32 од/год, відповідно. Штам *B. licheniformis* PCSIR-410-(5) є найменш продуктивним з поміж інших штамів - 6,27 од/год.

Таким чином, обґрунтованим продуцентом бацитрацину є штам бактеріальної культури *Bacillus licheniformis* DW2, що корелюється з результатами інформаційно-аналітичних вишукувань, наведених в розділі 1 поточного дисертаційного дослідження.

## 2.2 Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

Відповідно до даних *the Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHME) – *Bacterial skin diseases* [73] частота середньопланетарна частота

бактеріальних захворювань шкіри складає 14 684,3 випадки на 100 000 чоловік.

Відповідно до статистичних даних Держстату України [74], станом на 01.01.2022 чисельність українців складала – 41 167 300 чоловік.

Співвідносячи статистику захворюваності та кількість населення в Україні, кількість хворих на дерматологічні захворювання визначається за пропорцією – ф. (1):

$$\frac{14684,3 \times 41167300}{100000} = 6045130 \text{ ос.} \quad (1)$$

За даними дослідження Індексу здоров'я Україна 2020 [75] та Держстату України [76, 77], лише 28% українців звертаються до лікаря у випадку хвороби, 52% займаються самолікуванням (серед яких 32% лікуються ліками і 20% намагаються видужувати за допомогою народних методів та засобів) і 20% взагалі не лікуються.

Враховуючи загальну кількість пацієнтів, які можуть і будуть користуватися ліками, кількість пацієнтів які лікуються лікарськими засобами становить  $\approx 50\%$  – ф. (2):

$$\frac{6045130 \times 50}{100} = 3022565 \text{ ос.} \quad (2)$$

Для розрахунку потреби також потрібно враховувати наявність на ринку конкурентних препаратів, таких як аналогічний іноземний препарат *Baneocin (Sandoz)*, та ряд альтернативних антибактеріальних та загоювальних мазей, таких як Левомеколь, Стрептоцидова мазь та ін. Таким чином, для виробництва проектного препарату та можливість експорту бацитрацину, займемо 30 % від загальної ринкової потреби України – ф. (3):

$$\frac{3022565 \times 30}{100} = 906770 \text{ ос.} \quad (3)$$

Для лікування різних шкірних захворювань та опіків, згідно інструкції курс складає 2-3 використання протягом 7 днів [57, 78 – 89]. Для розрахунків приймемо, що за час одного використання витрачається від близько 0,5 до 2 г мазі/порошку залежно від розміру ураженої ділянки. Таким чином на 1 курс використовується від 7 до 42 г засобу, що в середньому приймемо 24,5 г. Це приблизно дорівнює 1 порції мазі/порошку по 20 г. Виходячи з цих даних можна припустити, що в рік для лікування дерматологічних захворювань українців необхідно 906 770 одиниць мазі дозуванням 20 г.

В перерахунку на вагу – ф. (4) [78 – 89]:

$$\frac{906770 \times 20}{1000} = 18135,4 \text{ кг (мазі)}. \quad (4)$$

Враховуючи, що 1 г мазі містить 0,00386 г бацитрацину цинку [57], то потреба в субстанції встановлюється за ф. (5) [78 – 89]:

$$18135,4 \times 0,00386 = 70 \text{ кг (бацитрацину цинку)}. \quad (5)$$

Таким чином, вихідні дані до розрахунку потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції – Таблиця .

Таблиця 4 – Вихідні дані до розрахунку потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

| Препарат                                | К-ть діючої речовини в 1 г мазі, г | Кількість населення, що лікується | Кількість одиниць мазі на 1 особу | Відсоток від потреби в мазі | Річна потреба в бацитрацині цинку, кг |
|---|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| Проектний ЛЗ (Прототип – Неоміцин плюс) | 0,00386                            | 3 022 565 осіб                    | 20 г                              | 30%                         | 70,0                                  |

Річна потреба в бацитрацині була зазначена раніше і становить 70 кг. За даними (Таблиця ) обраним штамом *B. licheniformis DW2* продукується близько 911,8 од/мл бацитрацину, враховуючи що 1 г бацитрацину цинку має активність 68 000 МО, це дорівнює 13,4 г/л [42 – 47]. Приймаючи попередні данні як вхідні для розрахунку, кількість культуральної рідини необхідної для отримання 70 кг бацитрацину становить – ф. (6) [78 – 89]:

$$\frac{70}{13,4} = 5,22 \text{ м}^3. \quad (6)$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні (до 45 %), необхідно отримати кількість культуральної рідини, що визначається за ф. (7) [78 – 89]:

$$V_{кр} = \frac{5,22}{(1 - 0,45)} = 9,49 \text{ м}^3. \quad (7)$$

Приймаємо, що для отримання 9,49 м<sup>3</sup> культуральної рідини необхідно 33 робочих трудоднів ( $T_{pd}$ ) (за аналізом роботи діючого підприємства). Відповідно кількість культуральної рідини на добу ( $V_{\delta}$ ) становитиме – ф. (8) [78 – 89]:

$$V_{\delta} = \frac{V_{кр}}{T_{pd}} = \frac{9,49}{33} = 0,2876 \text{ м}^3. \quad (8)$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл ( $V_{кри}$ ) – ф. (9)

[78 – 89]:

$$V_{кри} = K_1 \times V_o \times \frac{T_{цф}}{24} = 1,1 \times 0,2876 \times \frac{42}{24} \text{ м}^3. \quad (9)$$

де  $T_{цф}$  – цикл роботи ферментера, який включає: мийку та огляд – 2 год, перевірку на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізацію апарату – 1,5 год, охолодження ферментеру – 1 год, завантаження поживного середовища – 2 год, засів культурою – 0,5 год, ферментацію – 34 год, та вивантаження – 0,5 год, і становить 42 годину;

### 2.3 Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ, галузей використання, потреби у ЛЗ

Цільовий ЛЗ антибіотичного спектру дії – бацитрацин.

Фармакологічні властивості цільового ЛЗ – Таблиця [42 – 47, 51 – 54].

Таблиця 5 – Фармакологічні властивості бацитрацину [42 – 47, 51 – 54]

| Параметр                | Значення   |
|-------------------------|--|
| 1                       | 2  |
| Загальна характеристика | Бацитрацин – циклічний поліпептидний антибіотик, який використовується для профілактики ранових інфекцій, лікування пневмонії та емпієми у немовлят, а також для лікування інфекцій шкіри та очей. Бацитрацин являє собою комбінацію щонайменше 9 бацитрацинів. 60-80% комерційно виготовленого бацитрацину – це бацитрацин А. |
| Хімічна формула         | $C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$   |

|                     |   |
|---------------------|---|
| Хімічна структура   |   |
| <b>Фармакологія</b> |   |
| Індикація           | <p>Бацитрацин показаний для місцевого застосування при гострих і хронічних локалізованих шкірних інфекціях. Іноді він також використовується внутрішньом'язово при інфантильній стрептококовій пневмонії та емпіємі. Бацитрацин також виготовляється у вигляді мазі з неоміцином і поліміксином В для безрецептурного використання. Бацитрацинова мазь, складена з неоміцином і поліміксином.</p>   |
|                     | <p>В разі з гідрокортизоном, показана для лікування дерматозів, що реагують на кортикостероїди, із вторинною інфекцією.</p>   |
| Фармакодинаміка     | <p>Бацитрацин являє собою суміш поліпептидів, які перешкоджають утворенню клітинної стінки бактерій і окислювально розщеплюють ДНК. Він має короткий термін дії, оскільки його необхідно застосовувати кожні 3-4 години місцево. Бацитрацин є нефротоксичним при внутрішньом'язовому введенні та може призвести до ниркової недостатності. Оскільки всмоктування бацитрацину і через уражену шкіру незначне, максимальна концентрація препарату досягається у місці застосування. Тканинна переносимість оцінюється як відмінна, інактивація біологічними продуктами, кров'ю і тканинними компонентами не відзначається. Якщо препарат наносити на значні уражені ділянки шкіри, слід брати до уваги можливість абсорбції препарату та її наслідки. Бацитрацин незначною мірою всмоктується через слизову оболонку і шкіру. Однак всмоктування через шкіру при наявності відкритих ран може мати місце.</p> |
| Механізм дії        | <p>Бацитрацин зв'язується з іоном двовалентного металу, таким як Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) або Zn(II). Ці комплекси зв'язують C 55 – ізопреніліпірофосфат, запобігаючи гідролізу ліпиду доліхолпірофосфату, який зрештою інгібує синтез клітинної стінки. Металеві комплекси бацитрацину також зв'язують і окислювально розщеплюють ДНК.</p>   |
| Поглинання          | <p>Місцеві, офтальмологічні та пероральні форми бацитрацину погано всмоктуються системно. Внутрішньом'язове введення бацитрацину легко та повністю всмоктується.</p>  |
| Метаболізм          | <p>Дані про метаболізм бацитрацину в організмі людини недоступні. Оскільки бацитрацин є білком, очікується, що він метаболізується в менші поліпептиди та амінокислоти. Однак структура бацитрацину може забезпечити йому певний захист від дії протеаз.</p>  |

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Шляхи виведення       | Бацитрацин в основному виводиться нирками, причому 87% дози при внутрішньом'язовому введенні виявляється із сечею через 6 годин.  |
| Побічні ефекти        | Нефротоксичність. Бацитрацин внутрішньом'язово може спричинити ниркову недостатність через тубулярний і клубочковий некроз. Спочатку можуть спостерігатися альбумінурія, гематурія, циліндрурія та підвищення концентрації препарату в крові, а потім олігурія, азотемія та ниркова недостатність. Немовлята менш схильні до нефротоксичності бацитрацину, ніж діти старшого віку та дорослі. Токсичність залежить від загальної добової дози та тривалості терапії.<br>Реакції чутливості. Підвищена чутливість. Про випадки анафілаксії та/або алергічного контактного дерматиту повідомлялося, коли бацитрацин застосовувався за показаннями. Також повідомлялося про висип і свербіж. |
| Токсичність           | Пероральна ЛД <sub>50</sub> бацитрацину у щурів становить >2000 мг/кг. Конкретні дані щодо передозування бацитрацину недоступні. Передозування бацитрацину може призвести до нефротоксичності, тому пацієнтів слід лікувати за допомогою підтримуючих заходів.  |
| Взаємодії з іншими ЛЗ | Відомі взаємодії з 625 ЛЗ. Найбільший ризик підсилення нефротоксичності.  |

Фізико-хімічні властивості цільового ЛЗ [42 – 47, 51 – 54] – Таблиця

Таблиця 6 – Фізико-хімічні властивості бацитрацину [42 – 47, 51 – 54]

| Параметр                      | Значення, од. вим.                         |
|-------------------------------|--|
| Розчинність у воді            | 0,0245 мг/мл                               |
| logP                          | -2,9                                       |
| logP                          | -6,8                                       |
| logS                          | -4,8                                       |
| pKa (найсильніша кислота)     | 3.19                                       |
| pKa (найсильніший базовий)    | 9.63                                       |
| Фізіологічний заряд           | 0  |
| Кількість акцепторів водню    | 20   |
| Кількість донорів водню       | 17   |
| Полярна площа поверхні        | 530,87 Å <sup>2</sup>                      |
| Обертвий підрахунок облігацій | 31   |
| Заломлення                    | 363,14 м <sup>3</sup> · моль <sup>-1</sup> |
| Поляризованість               | 149,32 Å <sup>3</sup>                      |
| Кількість кілець              | 4  |
| Бюдоступність                 | 0  |
| Правило п'яти                 | –  |
| Фільтр Ghose                  | –  |
| Правило Вебера                | –  |
| MDDR-подібне правило          | +  |

Найбільшу роль бацитрацин займає в лікуванні дерматологічних, офтальмологічних, вушних захворювань, а також для лікування пневмонії. Механізмом дії бацитрацину є пригнічення синтезу клітинної стінки шляхом пригнічення ліпідного обміну переносників пептидоглікану (блокування синтезу пептидоглікану). В основному бацитрацин активний проти грампозитивних бактерій.

Найбільше поширення бацитрацин проявив у зовнішньому місцевому медикаментозному застосуванні для лікування ран та опіків в комбінованих препаратах разом з іншими антибіотиками. Саме синергічні антибіотичні властивості покладені в основі більшості препаратів на основі бацитрацину. Особливо часто використовується поєднання бацитрацину з неоміцином та поліміксином в мазях для місцевого лікування ран та опіків а також для лікування очних захворювань [42 – 47, 51 – 54].

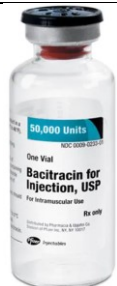



Новітні способи лікування шкірних захворювань як альтернатива традиційним мазям та порошкам з нанесенням на бинтові та марлеві пов'язки досліджують застосування бактеріально-целюлозних пов'язок просочених бацитрацином разом з іншими антибактеріальними агентами. Відмічається гарне зв'язування препаратів з бактеріальною целюлозою і високий потенціал як в профілактиці так і в лікуванні шкірних інфекцій.

Успіх в лікуванні ран пов'язують з появою нових лікарських засобів, серед яких особлива роль належить препарату Банеоцин (Sandoz) – комплексному антибактеріальному препарату для зовнішнього застосування, у формі порошку або мазі. В своєму складі містить два антибіотики – бацитрацин цинку та неоміцин. Бацитрацин цинку пригнічує синтез клітинної стінки, тоді як неоміцин проявляє більш широкий спектр протимікробної дії шляхом пригнічення синтезу бактеріальних білків і пригнічення генетичного апарату бактерій.

Для виробництва лікарського засобу перш за все необхідним є розуміння подальшої її реалізації та потреб в даному ЛЗ. Враховуючи ситуацію в країні, логічним є те що існує висока потреба в виробництві

нашкірних антибактеріальних засобів широкого спектру дії. Далі наведені деякі з найбільш використовуваних лікарських засобів на основі бацитрацину, що доступні на ринку ЛЗ (Таблиця 7).

Таблиця 7 – Дослідження ринку ЛЗ на основі бацитрацину

| Загальний вид   | Форма випуску                   | Торгова марка | Виробник/ Країна           | Субстанція                               | Застосування  | Посилання |
|---|---------------------------------|---------------|----------------------------|--|---|-----------|
| 1   | 2                               | 3             | 4                          | 5  | 6   | 7         |
|    | Ін'єкції (порошок для ін'єкцій) | Bacitracin    | Pfizer / Канада            | Бацитрацин цинку                         | Лікування пневмонії, емфіземи   | [55]      |
|   | Порошок на шкірний, мазь        | Baneocin      | Sandoz / Австрія           | Бацитрацин цинку, неоміцину сульфат      | Бактеріальне інфікування обмежених ділянок шкіри при герпетичних інфекціях, у т.ч. при вітряній віспі; інфікованих варикозних виразках; екземи; бактеріальному пелюшковому дерматиті. Профілактика пупкової інфекції у новонароджених. Після хірургічних маніпуляцій: як допоміжна терапія у післяопераційний період (у т.ч. лікування розривів промежини та епізіотомії, маститів з проведенням дренивання, посттравматичних інфекцій); інфекції при опіках. | [56]      |
|  |                                 | Неоміцин плюс | Здоров'я / Україна         | Бацитрацин цинку, неоміцину сульфат      |   | [57]      |
|  | Мазь                            | Neosporin     | GlaxoSmithKline GSK / Оман | Бацитрацин цинку, поліміксин Б, неоміцин |   | [58]      |

| 1  | 2                           | 3                | 4   | 5  | 6  | 7    |
|--|-----------------------------|------------------|---|--|--|------|
|   | Краплі<br>вушні             | Vasicoline-<br>B | Daleco<br>Pharma /<br>Нідерла<br>нди            | Гідро-<br>кортизон,<br>бацитрацин,<br>колістин | Лікування<br>запалення та<br>інфекції<br>зовнішнього<br>слухового проходу,<br>спричиненої<br>бактеріями,<br>чутливими до<br>колістину та/або<br>бацитрацину при:<br>дифузному<br>зовнішньому отиті;<br>вторинно<br>інфікована екзема<br>(така як себорейна<br>та атопічна екзема). | [59] |
|  | Офтальмо<br>логічна<br>мазь | Polysporin       | Johnson<br>&<br>Johnson<br>Consumer<br>/ Канада | Бацитрацин<br>цинку,<br>поліміксин Б           | Лікування<br>бактеріальних<br>інфекцій очей  | [60] |

Таким чином, зважаючи на особливості бацитрацину, найбільш широкого застосування у медичній практиці отримала форма цільового ЛЗ у вигляді мазей та кремів. У якості прототипу проектного ЛЗ визначаємо Неоміцин плюс (Здоров'я / Україна) [57].

## 2.4 Обґрунтування вибору форми випуску лікарського засобу

### 2.2.1 Обґрунтування форми випуску ЛЗ

Зважаючи, що на ринку України присутні лише Vaneocin (Sandoz), та Неоміцин плюс (Здоров'я), що представляють собою аналогічні за складом засоби для місцевого лікування дерматологічних захворювань та опіків, то в подальших ми будемо орієнтуватися на виробництві нашкірного засобу з бацитрацином. В подальших розрахунках виробничої потреби, буде

враховуватися потреба для препарату українського виробництва, а саме – Неоміцин плюс.

Найбільш оптимальною формою нашкірних засобів є різноманітні креми та мазі. Тому подальший опис буде ґрунтуватися саме на цій формі лікарського засобу.

### **2.2.2 Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ**

Первинна – індивідуальна або споживча упаковка, в якій є безпосередній контакт лікарського засобу з матеріалом упаковки. Вона призначена для створення необхідних умов, забезпечуючих тривалу цілісність укладеної в ній лікарської форми.

Вторинна – упаковка, яка призначена для захисту первинних упаковок (їх цілісності) і для більш повних інформативних відомостей.

Також є групова і транспортна упаковки.

Відповідно до досліджень Р. Mandal [61] концепція упаковки була запозичена з насіння рослин, оскільки воно зберігається в закритій оболонці, поки не проросте у відповідний сезон. Таким чином, тип натуральної упаковки забезпечує захист, збереження та виробництво. У сучасну епоху упаковка має на меті забезпечити безпеку продукту до використання. Для доставки продукту покупцям необхідна відповідна тара та закупорка, що не допускає взаємодії з продуктом будь-якого зовнішнього впливу. Основний захист контейнера посилюється вторинними, що забезпечує безпечне зберігання та підвищену стабільність. Елегантне відображення важливої інформації на етикетці забезпечує цілісність продукту. На етикетці вказано назву, міцність і якість, ідентифікаційний номер, інструкції щодо зберігання, вказівки щодо використання, термін придатності продукту, назву та адресу виробника. Ця інформація допомагає пацієнтам дотримуватися режиму лікування. Відповідно до вказівок регуляторного органу, слід остерігатися будь-яких форм підробки. Процеси пакування та пов'язане з ними

обладнання потребують перевірки та контролю якості еквівалента. Важлива роль компонентів упаковки та різні типи (матеріали, вимірювання тощо), технологія, дизайн, нормативні вказівки та застосовані тести, типи небезпек, процедури маркування з вказівками, а також забезпечення та контроль якості, відповідно до чого побудована факторіальна модель дизайну упаковки ЛЗ – Рисунок 10.

Більшість інших дослідників, таких як Т. Ramos [62], F. Bassani [63], H. Salmenperä [64] наполягають на зменшенні впливу техногенних матеріалів у пакуванні ЛЗ, проте в даному випадку необхідно зважати на форму і агрегатний стан проектного ЛЗ антибіотичного спектру дії.

Мазі містять лікарські і допоміжні речовини з різноманітними фізичними і хімічними властивостями, що зумовлюють можливість їх взаємодії як з атмосферними чинниками, так і з матеріалом тари, упаковки або закупорювання.

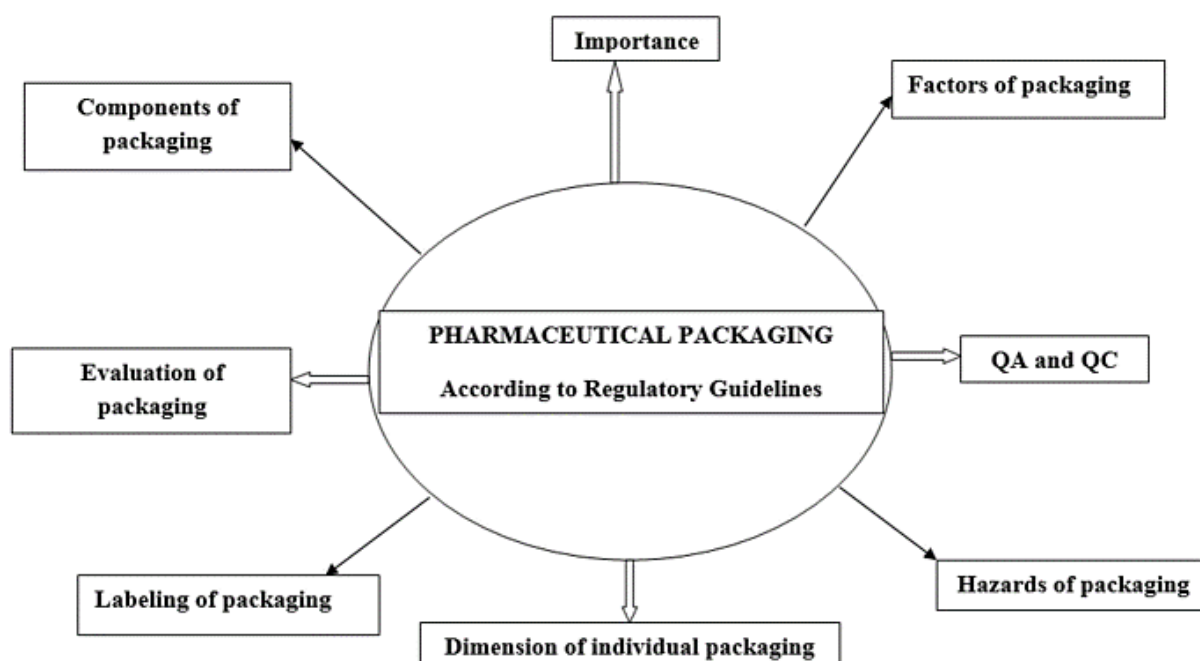


Рисунок 10 – Факторіальна модель дизайну упаковки ЛЗ, запропонована у дослідженні P. Mandal [61]

Первинні пакувальні засоби, що застосовуються у виробництві лікарських препаратів повинні задовольняти вимогам ДСТУ ISO 15378:2019 [65], зокрема за наступними аспектами:

Упаковка повинна бути виготовлена з нетоксичних матеріалів, сумісних з лікарськими засобами і дозволених МОЗ до застосування в контакті з даними лікарськими формами.

- упаковка повинна забезпечувати збереження маси і якості нашкірних лікарських засобів протягом встановлених термінів придатності;
- відповідність матеріалів тари і закупорювання вимогам безпеки для організму і сумісності з лікарськими препаратами потрібно визначати з урахуванням області і умов застосування препаратів, складу, властивостей, препаратів і лікарських форм, терміну придатності і умов зберігання останніх;
- деталі закупорювання повинні бути надійно фіксовані на (в) корпусі тари і в необхідних випадках забезпечувати її герметичність (стерильні мазі; вміст летких речовини або схильну волого- і газообміну з атмосферою);
- матеріали тари і закупорювання повинні бути хімічно і фізико-хімічно сумісні з лікарськими і допоміжними речовинами: не повинні вступати в хімічні реакції, набухати, розтріскуватися, розчинятися, мутніти, міняти забарвлення, втрачати механічну міцність і ін.;
- матеріали тари і закупорювання не повинні абсорбувати лікарські і допоміжні речовини в кількості, що впливає на зменшення їх вмісту в лікарському засобі понад встановлені норми;
- матеріали тари і закупорювання повинні бути практично непроникні для летучих і рідких інгредієнтів, а також, (в залежності від стійкості інгредієнтів, вхідних до складу мазі) –

- для пар води і кисню повітря і (при необхідності) – для мікроорганізмів;
- матеріал тари повинен годитися або підготовленим для приклеювання етикетки або нанесення друку;
  - тара і закупорювання повинні бути зручними при використанні і транспортуванні;
  - матеріал упаковки повинен оберігати від механічних впливів;
  - упаковка повинна забезпечувати захист від мікробного забруднення;
  - матеріали первинної упаковки не повинні містити: важких металів, миш'яку, інших шкідливих домішок, в кількостях, що перевищують нормативи; барвників, не дозволених до застосування; канцерогенних і токсичних компонентів; стороннього запаху; мікробної забрудненості вище встановлених норм.

Однією із заключних стадій виробництва м'яких лікарських форм є фасування та упаковка. У цей час дослідженню і розробці нових матеріалів для виробництва упаковки і тари приділяється велика увага, оскільки ці матеріали повинні відповідати суворим вимогам відносно герметичності, стабільності, індиферентності і міцності. Науково обгрунтоване застосування матеріалів і спеціальних форм упаковки сприяє підвищенню якості лікарських засобів і зручності їх застосування.

Упаковку мазей можна виготовляти в ємності з різних матеріалів, які не допускають адсорбції, дифузії вмісту і забруднення його матеріалом упаковки, а також забезпечують зручність застосування і можливість етикування. Водовмісні мазі і летучі речовини, повинні упаковуватися в ємності, що запобігають їх випаровуванню. У умовах аптек невеликі кількості мазей, приготовані по рецептах, вміщують в скляну або фарфорову баночки ємністю від 10 до 100 мл. Найбільш зручними є скляні баночки з

нагвинчувати пластмасовими кришками. Однак, баночки з скла, володіючи рядом безперечних переваг (хімічна і біологічна інертність по відношенню до багатьох лікарських препаратів, непроникність для них, можливість порівняно легкої герметизації і пр.), мають і недоліки, такі як мала механічна міцність, трудомісткість миття, стерилізації і ін. Тому в сучасному фармацевтичному виробництві фасування мазей і кремів здійснюється в туби, виготовлені з алюмінію і полімерних матеріалів.

Алюмінієві туби готують на спеціалізованих тубних заводах шляхом екструзії з алюмінію марок А6 і А7. Внутрішня поверхня алюмінієвих туб повинна бути покрита лаком, що використовується в консервній промисловості, а зовнішня – емалевою фарбою, на яку потім наноситься маркування. Алюмінієві туби можуть мати різну ємність – від 2,5 до 40 г і більш – Рисунок 11.



Рисунок 11 – Туби алюмінієві для мазей та кремів

Туби з полімерних матеріалів виготовляються з поліетилену низької і високої густини, поліпропілену і полівінілхлориду. Однак туби з полімерних матеріалів мають істотні недоліки, такі як проникність, для деяких масел, лікарських препаратів, газів, парів та ін., відсутність деформації при стисненні, здатність до набухання і ін., що обмежує їх широке застосування. Щоб уникнути цих недоліків, а також в зв'язку з підвищенням вимог до рівня

мікробної контамінації в нестерильних лікарських засобах, створюються комбіновані (ламіновані) пакувальні матеріали, що поєднують кращі властивості алюмінієвої фольги, полімерів і паперу.

Носик туби закривається ковпачком (бушоном). Ковпачки виготовляються з полімерних матеріалів (амінопласту, полістиролу, поліетилену, полівінілхлориду) методом лиття під тиском. Форма бушонов може бути різною (Рисунок 11).

М'які ЛФ (мазі, креми, пасти) м'які ЛФ упаковують в алюмінієві або пластмасові туби, банки з скломаси з гвинтовою горловиною.

Туби алюмінієві для медичних мазей виготовляються двох типів: звичайні і з подовженим носиком. Обидва типи туб випускаються різних об'ємів. Внутрішня поверхня туб покрита захисним лаком, а зовнішня – декоративною водостійкою емаллю, на яку наносять етикетку. Номер серії наносять шляхом тиснення на хвостовик туби при її закупорюванні.

Вторинну упаковку зазвичай виготовляють з картону, на яку наносять необхідну інформацію.

Зважаючи на особливості бацитрацину, а також факторіальну модель Р. Mandal [61] і критичні зауваження Т. Ramos [62], F. Bassani [63], H. Salmenperä [64] вважаємо обґрунтованим рішення наступного пакування для проектного ЛЗ:

первинна упаковка: алюмінієва туба, покрита з середини захисним лаком, ззовні емальованим покриттям. Гвинтова горловина та звичайний носик (закупорений). Ковпачок рифлений ззовні зроблений з поліетилену та адаптований для розкупорювання горловини по 20 г в тубі.

Вторинна упаковка: Пачка з білого картону з нанесенням шрифту Брайля та всією необхідною інформацією.

$K_1$  – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ( $K_1 = 1,1$ ).

### РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ

Далі наведені розрахунки стадії виділення з врахуванням матеріальних потоків вказано в (Таблиця 8)

Таблиця 8 – Розрахунок стадії виділення з врахуванням матеріальних потоків

| 1                     | Назва стадії (операції)                          | Матеріальні потоки на стадії | Кількість по стадіях |                |   |
|-----------------------|--|------------------------------|----------------------|----------------|---|
|                       |  |                              | Надійшло             | Втрати         | Вийшло  |
| 1                     | 2  | 3                            | 4                    | 5              | 6   |
| ТП 5. Центрифугування |  |                              |                      |                |   |
| 1                     | ТП5.1<br>Центрифугування<br>культуральної рідини | Культуральна рідина          | 605 л                | 4%<br>(24,2 л) | 580,8 л   |
|                       |  | Біомаса                      | 10%<br>(55кг)        | -              | 53,24 кг<br>(55кг/м <sup>3</sup> х0,6<br>05м <sup>3</sup> +60%<br>вологи) |
| ТП 6. Екстракція      |  |                              |                      |                |   |
| 2                     | ТП 6.1<br>Екстракція<br>бацитрацину              | Супернатант                  | 527,56 л             | -              | 527,56 л  |
|                       |  | Бутанол                      | 263,78 л             | -              | 263,78 л  |

|                  |             |                    |               |             |                                 |             |                |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------|-------------|----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b> |             |                |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> |                                 |             |                |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             | <i>Літ.</i>                     | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |                                 | 54          | 21             |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             | 56                              |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             | <b>Кафедра БТМ</b>              |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |                                 |             |                |

РОЗДІЛ 3. ОГЛЯД  
ЛІТЕРАТУРИ ПІДБІР  
ТЕХНОЛОГІЧНОГО  
ОБЛАДНАННЯ З

| ТП 6. Декантація   |   |                                   |                       |                 |          |
|--------------------|---|-----------------------------------|-----------------------|-----------------|----------|
| 3                  | ТП 6.2<br>Декантація                        | Емульсія                          | 791,34 л              | -               | 791,34 л |
|                    |   | Екстракт                          | 263,78 л              | 9%<br>(23,74 л) | 240,04 л |
|                    |   | Відпрацьований осад               | 527,56 л              | -               | 527,56 л |
| ТП 7. Осадження    |   |                                   |                       |                 |          |
| 4                  | ТП 7.1<br>Осадження<br>бацитрацину<br>цинку | Екстракт                          | 240,04 л              | 6%<br>(14,4 л)  | 225,64 л |
|                    |   | Хлорид цинку                      | 0,28%<br>(632г)       | -               | 226,27 л |
| ТП 8. Фільтрація   |   |                                   |                       |                 |          |
| 5                  | ТП 8.1<br>Фільтрація                        | Бутанол на регенераці             | 73,235%<br>(165,71 л) | -               | 165,71 л |
|                    |   | Осад бацитрацина цинку            | 60,56 кг              | 4%<br>(2,42кг)  | 58,14 кг |
| ТП 9. Сушка        |   |                                   |                       |                 |          |
| 6                  | ТП 9.1 Сушка<br>бацитрацину<br>цинку        | Осад бацитрацину цинку            | 58,14 кг              | 3%<br>(1,74кг)  | 56,4 кг  |
|                    |   | Сухий препарат (вміст вологи 10%) | 90%                   | -               | 5,64 кг  |
| ТП 10. Подрібнення |   |                                   |                       |                 |          |
| 7                  | ТП 10.1<br>Подрібнення                      | Сухий препарат                    | 5,64 кг               | 1%<br>(56 г)    | 5,58 кг  |
| ТП 10. Просіювання |   |                                   |                       |                 |          |
| 8                  | ТП 10.2<br>Просіювання                      | Сухий препарат                    | 5,58 кг               | 1%<br>(56 г)    | 5,52 кг  |

### 3.1 Відділення біомаси від культуральної рідини

Біотехнологічні процеси виділення цільового продукту суттєво різняться залежно від того, накопичується продукт у клітині чи він виділяється в культуральну рідину, або продуктом є клітинна біомаса. Найбільш складним є виділення внутрішньоклітинного препарату. При цьому клітини необхідно відокремити від середовища культивування, їх руйнувати, а потім цільовий продукт очистити від залишків зруйнованих клітин.

Виділення продукту значно полегшується, якщо він екскретується продуцентом в культуральну рідину. Тому одним із нагальних завдань біотехнології є створення промислових штамів мікроорганізмів, що секретують можливо більшу кількість цінних продуктів у значних кількостях. Технологія виділення та очищення значною мірою визначається природою цільового продукту. У ряді випадків існує можливість не використовувати ретельне очищення продукту, якщо він має необхідні активності в неочищеному стані і якщо домішка сторонніх речовин не має будь-яких небажаних впливів при його використанні. Деякі традиційні біотехнологічні процеси виключають етап відділення продукту.

Застосовуються різні методи розділенню [78 – 89]:

Фільтрування. Різні застосовувані нині фільтруючі системи (барабанні, стрічкові, тарілчасті фільтри, карусельні вакуум-фільтри, фільтр-преси, мембранні фільтри) засновані на однаковому принципі - затримці біомаси на пористій перегородці, що фільтрує. Недоліком способу є налипання клітин на фільтрі, шар яких знижує швидкість протоки рідини у процесі фільтрування. Для фільтрів безперервної дії передбачаються системи автоматичного очищення від біомаси, що забиває пори. Вона може здуватися з поверхні фільтрів стисненим повітрям або видалятися спеціальними "ножами". Існують також фільтри для багаторазового або одноразового періодичного використання. Наприклад, мембранні (зокрема тефлонові) фільтри, що дозволяють фільтрувати дуже розведені клітинні суспензії. Однак проблемою їх використання є швидка закупорка пір клітинами, білками та іншими

колоїдними частинками. Прийоми механічного видалення матеріалу, що забиває фільтри, при цьому способі фільтрації не придатні, оскільки ушкоджують мембрани. Прийнятним шляхом подолання труднощів такого роду є покриття мембранних фільтрів гідрофільним шаром, що перешкоджає контакту білків (колоїдів) з поверхнею фільтра або обробкою фільтрів гідролітичними ферментами.

Центрифугування. Цей спосіб вимагає більш дорогого обладнання, ніж фільтрування, тому він застосовується, якщо [78 – 89]:

1. Суспензія фільтрується надто повільно; б) виникає необхідність максимального звільнення культуральної рідини від частинок, що містяться в ній.
2. Необхідно забезпечити безперервний процес сепарації, коли фільтри розраховані на періодичну дію.

Центрифугування та фільтрація в деяких біотехнологічних процесах здійснюється в комбінації, тобто застосовуються фільтраційні центрифуги, в яких поділ рідкої та твердої фази заснований на двох процесах фільтрування та центрифугування.

Досить широко використовуються прийоми, де поділ забезпечується лише відцентровою силою. Найбільш перспективними в цьому відношенні є центрифуги-сепаратори, в яких біомаса, що відокремлюється, осідає на стінках обертового циліндра або спеціальних тарілчастих вставках.

З урахуванням особливостей виробництва, для виділення біомаси з культуральної рідини застосовуємо центрифугування.

У мікробіологічній промисловості використовують різні типи машин з метою відділення баластних частинок з розчинів біологічно активних речовин, біомаси від культуральної рідини, виділення біологічно активного комплексу при його виділенні з розчинів, а також для поділу сумішей рідини або суспензій. У промислових установках відцентровий поділ застосовують відділення частинок розміром від 25 мм до 0,5 мкм. При поділі біологічних рідин до центрифуг і сепараторів пред'являються особливі вимоги щодо

здатності, що розділяє, і забезпечення стерильності процесу для запобігання потраплянню аерозолів в навколишнє середовище [78 – 89].

Під центрифугуванням розуміють процес поділу неоднорідних систем, суспензій та емульсій, у полі відцентрових сил з використанням суцільних або проникних для рідини перегородок. В апаратах із суцільними стінками виробляють поділ суспензій та емульсій за принципом відстоювання, причому дія сили тяжіння замінюється дією відцентрової сили. В апаратах із проникними стінками здійснюється процес поділу суспензій за принципом фільтрування, причому замість різниці тисків використовується дія відцентрової сили. Поділ неоднорідних систем центрифугуванням, з фізичної точки зору, можна розглядати як процес вільного або стиснутого осадження зважених частинок рідини під дією відцентрового силового поля. Відцентрова сила виникає при обертанні центрифуги і суспензії, що знаходиться в ній. Вона виникає, як сила інерції при обертальному русі тіл і завжди спрямована по радіусу від осі обертання до периферії.

У практиці центрифугування, як вже було сказано вище, використовуються два основні способи поділу суспензій: відцентрове фільтрування та відцентрове осадження. Відповідно, за фізичною сутністю реалізованого процесу центрифуги поділяють на фільтруючі та осаджувальні (відстійні). Робочим органом центрифуги є ротор (барабан), закріплений на валу, що обертається, у внутрішню порожнину якого подається суспензія.

Центрифуги призначені для поділу емульсій і суспензій, що погано фільтруються, а також поділу суспензій по крупності частинок твердої фази. За режимом роботи виділяють центрифуги періодичної та безперервної дії. Для перших характерне послідовне здійснення операцій робочого циклу у всьому обсязі ротора, для других – одночасне виконання операцій на різних ділянках ротора при переміщенні осаду вздовж його утворює. Центрифуги класифікують також за способом розвантаження осаду. Для машин періодичної дії характерне вивантаження вручну, гравітаційне, за допомогою ножа; для центрифуг безперервної дії – пульсуюча, шнекова, вібраційна.

Розрахунок продуктивності центрифуг у доступному вигляді представлений у роботі. Найбільш використовувані типи центрифуг періодичної дії – маятникові та горизонтальні з ножовим вивантаженням осаду [78 – 89].

У горизонтальних центрифугах з ножовим вивантаженням осаду всі операції робочого циклу виконуються за однакової частоти обертання ротора, як правило, в автоматичному режимі.

Для виділення біомаси з культуральної рідини застосовуємо центрифугу АТ «СМНВО – Інжиніринг» GK1600 [90] з ножовим вивантаженням осаду – Рисунок 12, Таблиця .

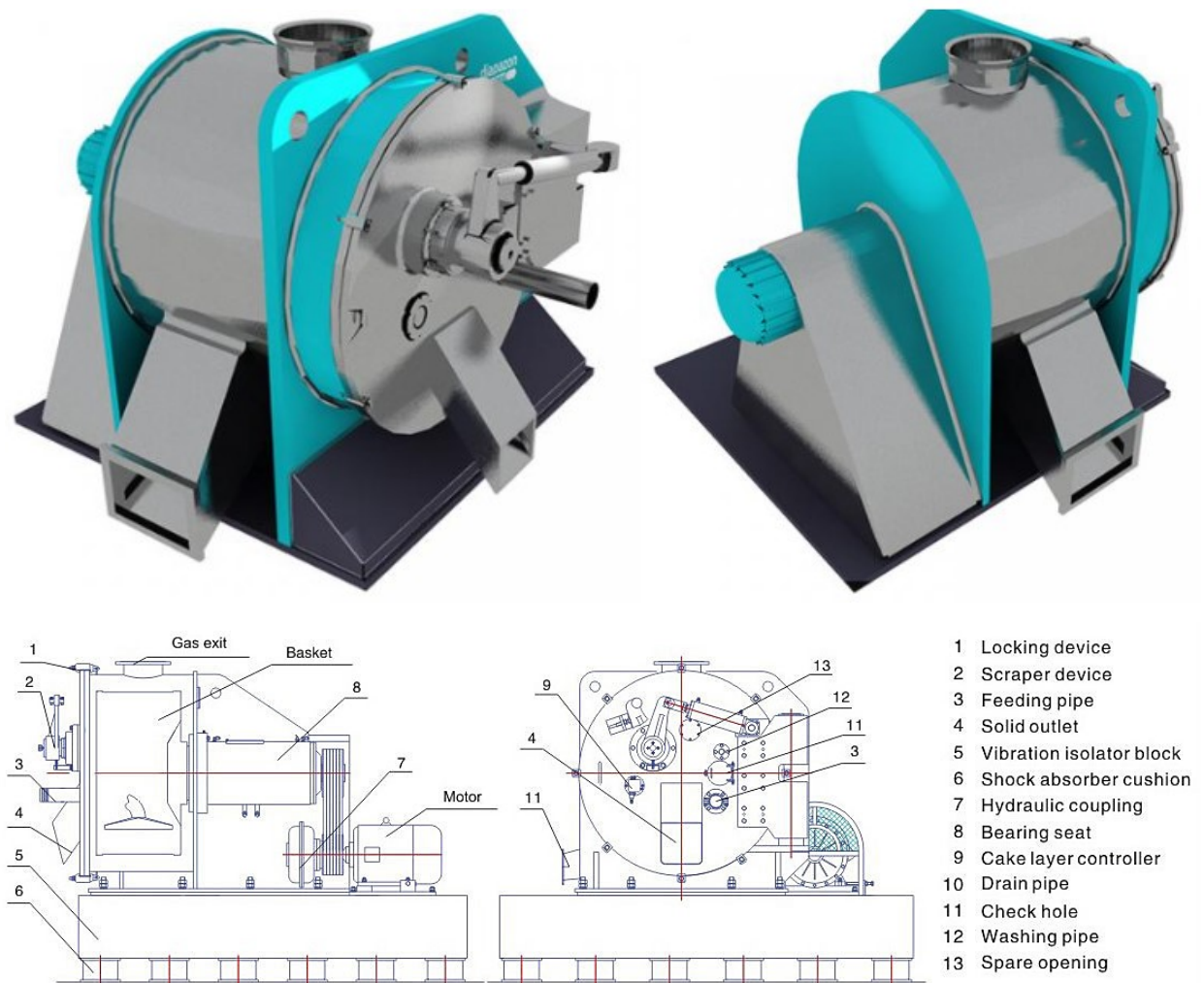


Рисунок 12 – Центрифуга GK1600 з ножовим вивантаженням осаду (АТ «СМНВО – Інжиніринг») [90]

Горизонтальна центрифуга з ножовим зніманням осаду серій GK/GKH призначена для періодичного поділу суспензій, що містять великі, середні та малі розміри частинок, таких як сірчаний аміак, вуглекислий аміак, бікарбонат амонію, полівінілхлорид і т. д. Весь технологічний процес здійснюється в автоматичному або ручному режимі зі швидким перемиканням між ними за потреби.

Таблиця 9 – Технічні характеристики центрифуги GK1600 з ножовим вивантаженням осаду (АТ «СМНВО – Інжиніринг») [90]

| Найменування параметру       | GK1600         |
|------------------------------|----------------|
| Діаметр барабану, мм         | 1600           |
| Довжина барабану, мм         | 800            |
| Об'єм барабану, л            | 690            |
| Максимальне завантаження, кг | 930            |
| Частота обертання, об/хв     | 950            |
| Чинник поділу                | 808            |
| Потужність двигуна, кВт      | 90             |
| Габарити (Д × Ш × В), мм     | 4200×2750×2300 |
| Маса, кг                     | 15000          |

## 3.2 Обробка супернатанту

### 3.2.1 Екстракція бацитрацину в протипоточному екстракторі

У процесі розвитку мікроорганізмів утворювані ними антибіотики у більшості випадків майже повністю виділяються з клітин у навколишнє середовище.

Мета хімічного очищення – вилучення антибіотика з нативної рідини, його концентрація і звільнення від супутніх домішок і в кінцевому рахунку отримання високоочищеного препарату, придатного для відповідного застосування.

Антибіотичні речовини під впливом жорстких зовнішніх факторів (підвищеної температури, високої кислотності або лужності та ін.) у ряді

випадків втрачають свої властивості, інактивуються. Тому при їх виділенні та очищенні необхідно дотримуватися максимуму обережності.

Основними методами очищення антибіотиків є [78 – 89]:

- метод екстракції. Нерідко з метою очищення антибіотика від різних домішок його багаторазово переводять з одного розчинника до іншого з попереднім осадженням (кристалізацією). Такий прийом зветься перекристалізацією;
- метод осадження. Антибіотик пов'язують з органічними або неорганічними речовинами з метою одержання сполуки, що випадає в осад; останній за допомогою фільтрів або центрифугування відокремлюють від нативного розчину, промивають і у ряді випадків висушують. З'єднання, що утворилося, розчиняють і антибіотик екстрагують або знову осаджують.

Одна із стадій хімічної очистки антибіотиків – концентрування отриманих розчинів; досягається відгін більшої частини розчинника, як правило, у високому вакуумі.

Застосовувані методи виділення та хімічного очищення, а також якість обладнання та реактивів, що використовуються, мають велике значення, насамперед для поліпшення якості одержуваного антибіотика та збільшення виходу препарату.

Процес екстракції складається з двох елементів, що проводяться або в одному, або в різних апаратах: емульгування однієї рідини в іншій і їх взаємного руху, при яких відбувається екстракція і поділ рідин [78 – 89].

Сучасні відцентрові рідинні екстрактори безперервного дії за способом їх роботи ділять на прямоточні і протипоточні. В прямоточних екстракторах розчин і екстрагент, що підводяться безперервними потоками, змішуються в окремому апараті змішувачі або в змішувальному пристрої екстрактора сепаратора, потім транспортуються до сепаратора або сепараторного барабану екстрактора-сепаратора. У протипоточних екстракторах-сепараторах екстрагент і розчин рухаються протипоточно в роторі апарату.

Екстракцію антибіотиків з культуральної рідини проводять ацетоном, бутанолом або іншими органічними розчинниками [78 – 89].

Відтак, для виділення бацитрацину цинку обрано рідинний протипоточний тарілчастий екстрактор *RDC (Koch Modular)* [91] – Рисунок 13, Таблиця .

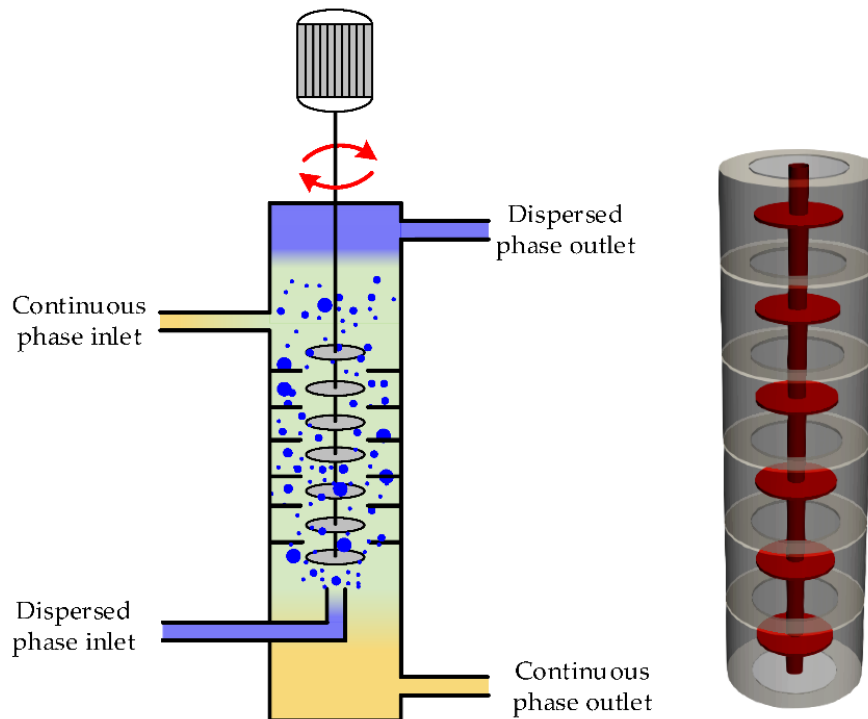


Рисунок 13 – Загальний вид та принцип дії рідинного протипоточного тарілчастого екстрактору *RDC (Koch Modular)* [91]

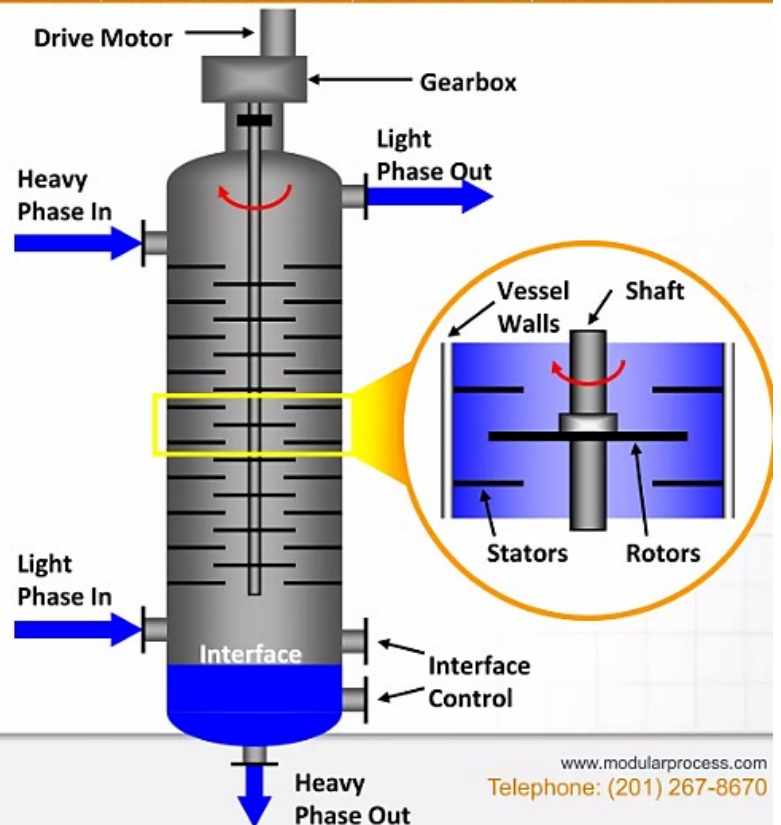
Таблиця 10 – Технічні характеристики рідинного протипоточного тарілчастого екстрактору *RDC (Koch Modular)* [91]

|   |  |
|---|--|
| Найменування параметру                              | <i>RDC</i>   |
| Продуктивність, м <sup>3</sup> /м <sup>2</sup> -год | 20–30  |
| Тип апарату   | Рідинний   |
| Тип контактору                                      | Тарілки  |
| Перемішування                                       | Осьове   |
| Регулювання продуктивності, %                       | 40   |
| Об'єм, л  | 650  |
| Особливості експлуатації                            | Підходить для в'язких матеріалів<br>Підходить для обростаючих матеріалів |
| Схема та технічні дані                              |  |

# RDC Extractor

## Characteristics

- Reasonable capacity:  
20-30 M<sup>3</sup>/M<sup>2</sup>-hr
- Limited efficiency due to axial backmixing
- Suitable for viscous materials
- Suitable for fouling materials
- Sensitive to emulsions due to high shear mixing
- Reasonable turndown (40%)



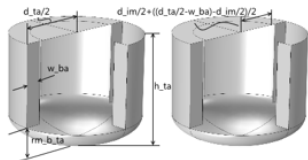
Таким чином, застосування рідинного протипоточного тарілчастого екстрактору *RDC (Koch Modular)* [91] дозволить отримати екстрагований концентрований розчин бацитрацину цинку.

### 3.2.2 Осадження бацитрацину цинку

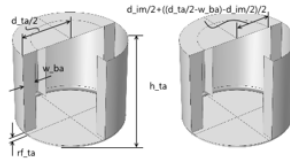
Осадження екстрагованого та концентрованого розчину бацитрацину здійснюється за посередництва хлориду цинку. Процес проводиться у реакторі-змішувачі, що включає перемішуючий пристрій (імпелер), що мають різну технолого-конструктивну варіативність – Рисунок 14, Рисунок 15.

# Tank Types

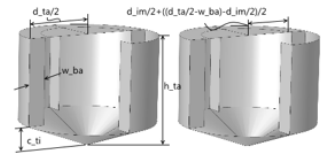
All tanks can be equipped with an arbitrary number of rectangular baffles attached to the tank walls



Dished bottom

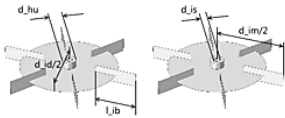


Flat bottom

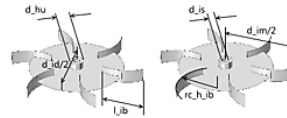


Cone bottom

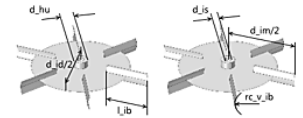
# Radial Impellers



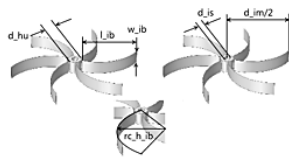
Rushton turbine



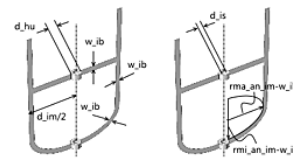
Rushton with backswept blades



Smith turbine



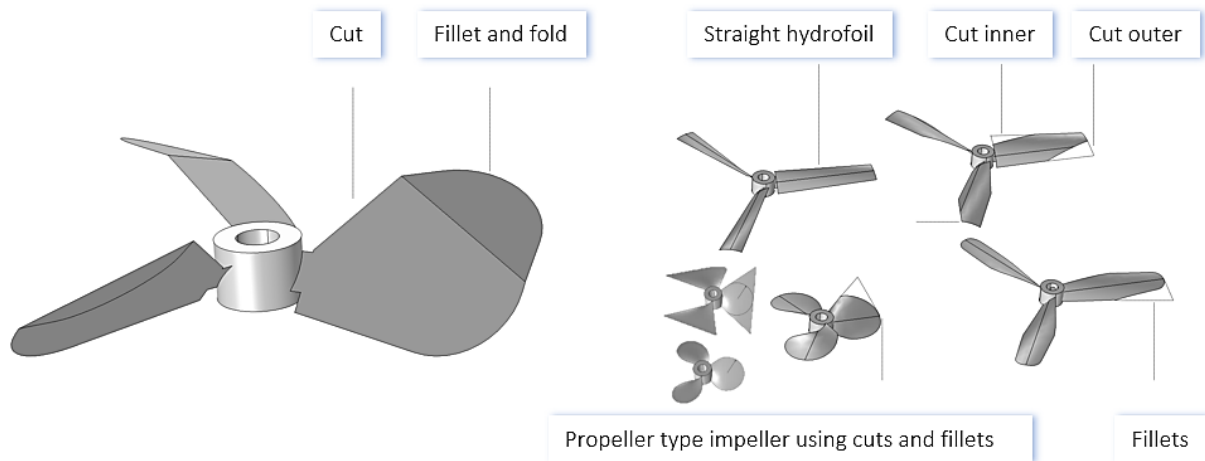
Backswept



Anchor

Рисунок 14 – Конструктивна варіативність реакторів-змішувачів [78 – 89]

# Great variety of Designs Possible for Pitched and Hydrofoil Impellers



## Axial Impellers

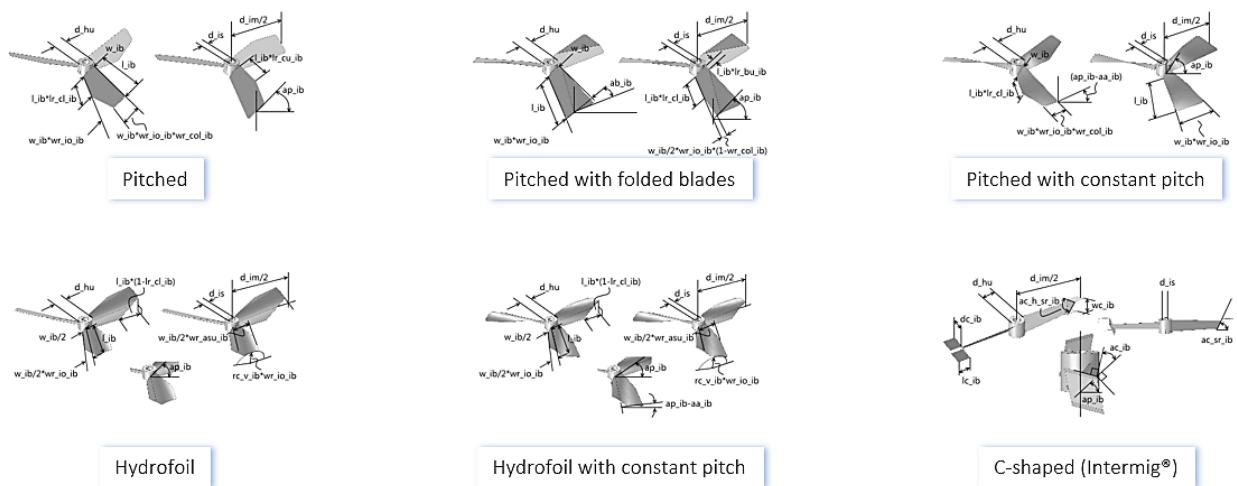


Рисунок 15 – Конструктивна варіативність імпелерів реакторів-змішувачів

[78 – 89]

Осьові імпелери надають потоку осьову складову, яка забезпечує перемішування вздовж осі  $z$  змішувача. Цей тип змішування підходить для рідин, чутливих до високих швидкостей зсуву. Наприклад, процеси бродіння мають живі клітини в реакторному розчині, які будуть вбиті високою

швидкістю зсуву. У цих процесах часто вибирають осьові імпелери, а перегородки зазвичай не використовують.

Радіальні імпелери примушують потік рухатись у радіальному напрямку та дають осьову складову лише тоді, коли потік торкається стінок посудини. Щоб досягти гарного змішування, ці апарати покладаються на високі швидкості зсуву та наявність перегородок, які порушують тангенціальні потоки, однак це призводить до поганого змішування.

Існує також якірний імпелер, яке класифікується як радіальний, оскільки він не створює осьової складової потоку. Однак якірний імпелер не створює радіальний потік, як це робить звичайний радіальний імпелер [78 – 89].

Реактори-змішувачі завдяки імпелерам досягають необхідного рівня осадження з урахуванням премішуваних технологічних потоків – Рисунок 16.

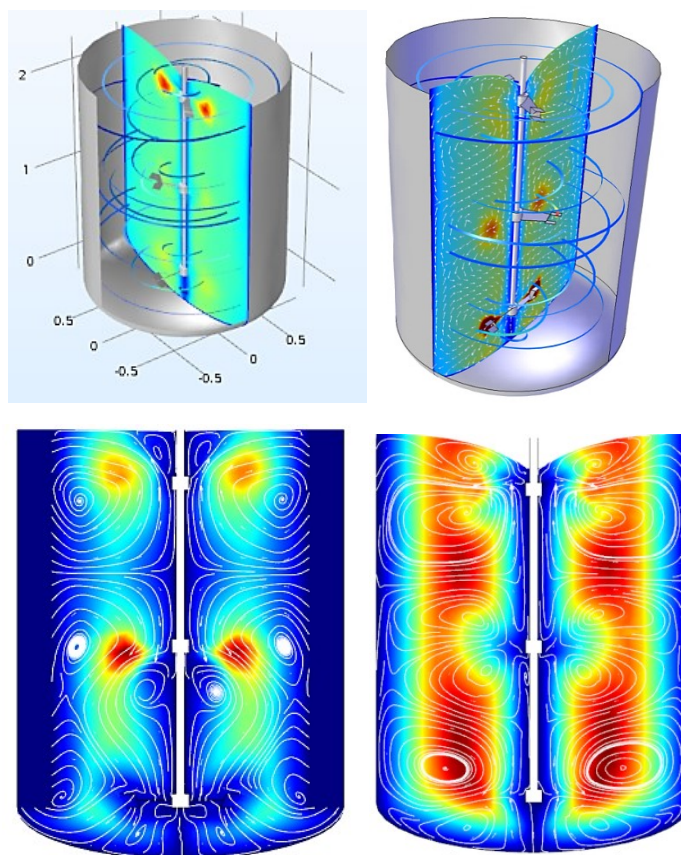


Рисунок 16 – Візуалізація впливу конструктивного рішення імпелеру реактору-змішувача на технологічні параметри процесу перемішування

Зважаючи на рекомендації [78 – 89] стосовно технологічно-конструктивного рішення реактору-змішувача (зокрема конструкції імпелеру), для осадження екстрагованого концентрованого розчину бацитрацину використовуємо біореактор *Himiks* [92] з лопатевим імпелером та автоматизованою системою керування – Рисунок 17, Таблиця 1.

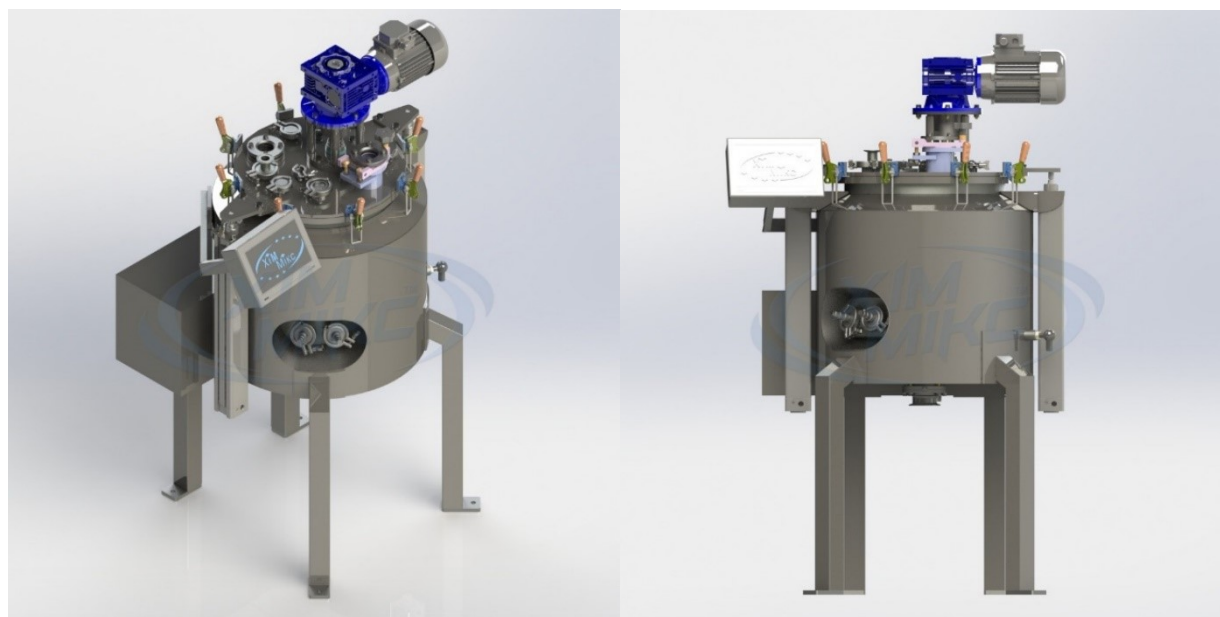


Рисунок 17 – Біореактор (реактор-змішувач) *Himiks* [92]

Таблиця 1 – Технічні характеристики біореактора (реактора-змішувача) *Himiks* [92]

| Найменування параметру                    | Біореактор <i>Himiks</i> [92]  |
|---|--|
| Тип                                       | Реактор-змішувач для перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу |
| Режим функціонування                      | Періодичний / безперервний   |
| Об'єм, л                                  | 500л   |
| Підтримання температури у сорочці, °С, до | 160  |
| Тиск, бар, до                             | 4  |
| Можливість працювати під вакуумом         | +  |
| Тип імпелеру                              | Лопатевий  |

Біореактор – це апарат спеціального призначення, основне завдання якого – перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу [92]

Біореактори застосовується в біотехнологічній промисловості при виробництві лікарських та ветеринарних препаратів, вакцин, продуктів харчової промисловості (ферменти, харчові добавки), а також при біоконверсії крохмалю та виробництві полісахаридів [92].

### 3.2.3 Фільтрування розчину

Для фільтрації невеликих обсягів культуральної рідини зазвичай використовують друк-фільтри. Для відфільтровування суспензії бацитрацину цинку від нативного розчину доцільно застосовувати друк-фільтри.

Друк-фільтри – це пристрої, що застосовуються для фільтрування суспензій (розчинів із суспензією частинок), під впливом високого тиску, враховуючи це, їх корпуси, виробляють із матеріалів високої міцності.

Друк-фільтри застосовують для фільтрування щодо щільних суспензій (до  $5 \text{ г/см}^3$ ), колоїдних розчинів, в'язких або з великим питомим опором осаду рідин. Такі пристрої використовують і для розчинів, що містять леткі сполуки.

Промислові та лабораторні друк-фільтри ефективні за необхідності роботи з дрібнозернистими та полідисперсними опадами, які схильні забивати пори різних фільтрувальних матеріалів, знижуючи швидкість та ефективність фільтрування. Надлишковий тиск, що застосовується в друк-фільтрах, дозволяє уникнути подібних проблем і досягти високих якісних результатів [78 – 89].

Друк-фільтри є закриті ємності, виготовлені з міцних матеріалів (зазвичай сталі). Внутрішній об'єм пристроїв розділений перфорованою плитою, яка називається хибним дном, на яку покладений фільтрувальний матеріал. При необхідності роботи з продуктами, що вимагають підтримки певної температури, корпуси фільтрів можуть бути забезпечені термосорочками, що забезпечують нагрівання або охолодження.

Як правило, суспензія, яку необхідно відфільтрувати, заливається у верхню частину установки і туди нагнітається надлишковий тиск. Проходячи через фільтрувальну перегородку, суміш поділяється на тверду складову (осад), яка затримується на фільтрі та рідку (фільтрат), яка надходить у нижню частину апарату, після чого виводиться назовні.

Друк-фільтри відносно прості та технологічні, але працюють, у так званому, періодичному режимі, тобто вимагають переривання процесу видалення осаду. Однак сьогодні розроблені варіанти здатні функціонувати в пролонгованому режимі, для чого над фільтруючою перегородкою встановлюється мішалка або скребок, що обертається, що зміщує надлишок осаду, тим самим звільняючи робочу поверхню фільтрувального матеріалу. Деякі варіанти фільтрів забезпечуються знімними кошиками для полегшення процесу вивантаження осаду.

Зазвичай друк-фільтри виконані на зручних рамних каркасах, що забезпечує стійкість, підвищує зручність та ефективність експлуатації.

Багато друк-фільтрів, вже у стандартному виконанні, забезпечені люками та штуцерами для подачі суспензії, промивної рідини, подачі повітря та зливу відпрацьованого фільтрату. На корпусі розташовується люк для вивантаження осаду або корпус виконується роз'ємним для спрощення технологічного процесу.

Цикл роботи друк-фільтрів складається з наступних стадій [78 – 89]:

- наповнення верхньої ємності фільтра первинною суспензією;
- заповнення верхньої ємності газом під тиском;
- робочий процес фільтрування під впливом високого тиску;
- формування осаду;
- осушення отриманого осаду від залишків фільтрату;
- зняття осаду з фільтрувального матеріалу;
- відновлення властивостей фільтрувальної тканини.

Враховуючи технологічну варіативність друк-фільтрів для фільтрування суспензії бацитрацину застосовуємо друк-фільтр ДСЕв 0,8-11-12-01 ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.» [93] – Рисунок 18, Таблиця 2.

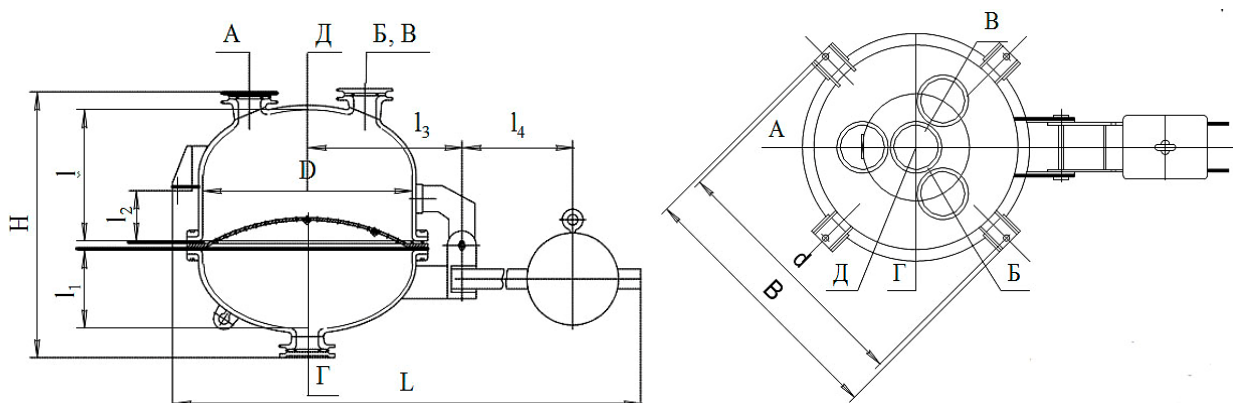


Рисунок 18 – Загальний вид та габаритна схема друк-фільтру ДСЕв 0,8-11-12-01 ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.» [93]

Таблиця 2 – Технічна характеристика друк-фільтру ДСЕв 0,8-11-12-01 ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.» [93]

| Найменування параметру                     | Друк-фільтр ДСЕв 0,8-11-12-01 ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.» [93]   |
|--|---|
| 1  | 2   |
| Робочий надлишковий тиск, МПа              | 0,04  |
| Допустима температура стінки в корпусі, °С | при рН=14 - від -20 до +80; при рН=13 - від -20 до +90; при рН=12 - від -20 до +110; при рН=11 - від -20 до +130; в нейтральному середовищі - від -20 до +150; в кислому середовищі - від -20 до +200 |
| Поверхня фільтрації, м <sup>2</sup>        | 0,8   |
| Об'єм, м <sup>3</sup>                      | 1,0   |
| D, мм                                      | 1000  |
| l, мм                                      | 1130  |
| l <sub>1</sub> , мм                        | 315   |
| l <sub>2</sub> , мм                        | 510   |
| l <sub>3</sub> , мм                        | 670   |
| l <sub>4</sub> , мм                        | 1000  |
| d, мм                                      | 1212  |
| Довжина, L, мм                             | 2020  |
| Ширина, B, мм                              | 1256  |
| Висота, H, мм                              | 1680  |
| Маса, кг                                   | 1140  |

Зазначені апарати мають досить велику фільтруючу поверхню, за рахунок чого вони відрізняються вкрай високою продуктивністю [93].

### **3.2.4 Одержання сухого антибіотичного препарату**

Осад бацитрацину цинку, отриманий при фільтруванні суспензії в друк-фільтрі піддається сушінню в духовій шафі.

Сушіння хіміко-фармацевтичних препаратів з їх специфічних властивостей, зазвичай, виробляється штучним шляхом (в сушильних апаратах). Це складний технологічний процес, який часто є вирішальним етапом виробництва, що впливає на якість продукції, що випускається. Перевагою штучної сушіння є значно менша її тривалість. У технології виробництва лікарських препаратів сушінню приділяється особлива увага, що пояснюється вимогами фармакопейної чистоти продукції, що випускається, неприпустимості її бактеріального обсіменіння.

Процес сушіння - дуже складний комплекс теплових, дифузійних, часто біологічних та хімічних явищ (особливо коли справа стосується інтенсивної сушіння) [78 – 89].

Незважаючи на загальну тенденцію в промисловості до переходу на застосування сушильного обладнання безперервної дії, що дозволяє інтенсифікувати та механізувати процес, сушарки періодичної дії не втратили свого значення.

У хіміко-фармацевтичній промисловості, де багато виробництва відносяться до розряду малотоннажних (насамперед це стосується виробництв сучасних багатьох високоефективних препаратів, поодинокі потужності яких становлять від кількох десятків кілограмів до десятків тон на рік), застосування цих сушарок, як показує світова практика, у ряді випадків досить виправдано.

До сушарок періодичної дії можна віднести вакуум-поличні сушарки (вакуумні шафи), що випускаються промисловістю.

Цей тип сушарок є зазвичай горизонтальним циліндричним апаратом або прямокутною шафою з відкидною передньою кришкою. Усередині шафи на стійках встановлені плити, що гріють. Матеріал, що надходить на сушку, завантажують (зазвичай вручну) на листи, які встановлюють на плити, що гріють.

Сушіння протікає під дією кондукційного нагрівання нерухомого шару матеріалу в умовах вакууму. Пари вологи, що випаровується в процесі сушіння, повітря відсмоктуються з шафи вакуум-насосом.

Сушарки поличкові, атмосферні. Поличкові шафні сушарки є прямокутною камерою, всередині якої поміщається нерухомо етажерка з полицями. Матеріал завантажують на листи, які встановлюють на полиці. Його періодично переміщують вручну, або він залишається нерухомим протягом усього процесу сушіння [78 – 89].

У поличкових сушарках застосовується багаторазова циркуляція сушильного агенту (зазвичай повітря) із проміжним підігрівом у калориферах. Поличкові сушарки, що застосовуються в медичній промисловості зазвичай виготовляються з виносним вентилятором, встановленим зверху камери сушарки. В силу властивих їм недоліків сушарки подібного типу не слід застосовувати для сушіння матеріалів, що пилять, а також токсичних продуктів. Особливо стоїть питання сушіння цим способом продуктів від легкозаймистих рідин (ЛЗР), які часто застосовуються в хіміко-фармацевтичній промисловості для виділення та очищення напівпродуктів і готових препаратів шляхом їх кристалізації з середовища органічного розчинника.

Застосування поличкових сушарок у хіміко-фармацевтичній промисловості може бути виправдане (з урахуванням зазначених вище обмежень) у малотоннажних виробництвах і для дослідних установок, коли кількість продукту, що висушується, незначно і вимірюється в межах від

кількох кілограмів до кількох десятків кілограмів за операцію. У цьому випадку питання економії не відіграють істотної ролі.

Зважаючи на рекомендації [78 – 89] у якості засобу для отримання сухого сухого антибіотичного препарату застосуємо сушильну шафу *UF1060 Memmert GmbH + Co. KG* [94] – Рисунок 19,

Таблиця 3.

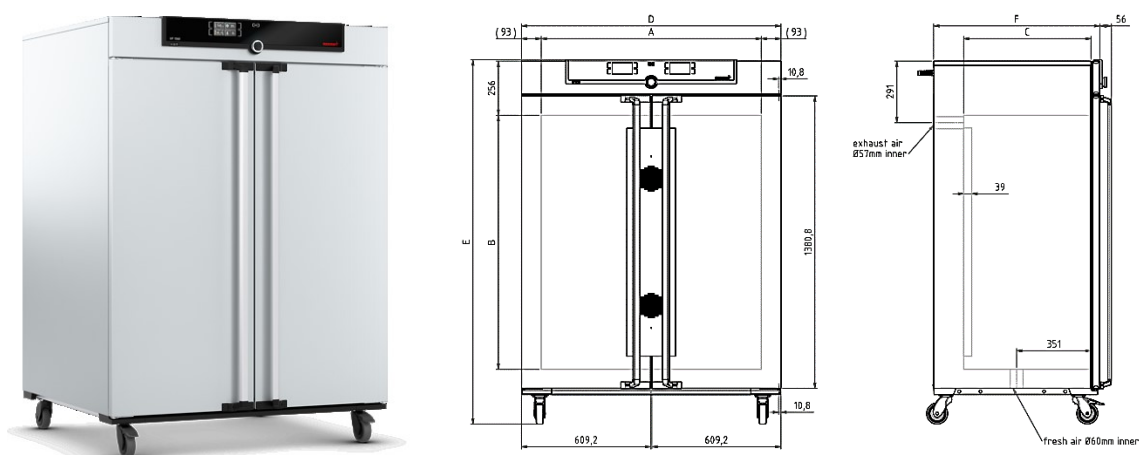


Рисунок 19 – Загальний вид та габаритні розміри сушильної шафи *UF1060 Memmert GmbH + Co. KG* [94]

Таблиця 3 – Технічна характеристика сушильної шафи *UF1060 Memmert GmbH + Co. KG* [94]

| Найменування параметру            | Сушильна шафа <i>UF1060 Memmert GmbH + Co. KG</i> [94]   |
|-----------------------------------|--|
| 1                                 | 2  |
| Діапазон робочих температур       | не менше 5 (UN/UNplus/UNm/UNmplus) або 10 (UF/UFplus/UFm/UFmplus) вище температури навколишнього середовища до +300 °C           |
| Точність встановлення температури | до 99,9 °C: 0,1 / від 100 °C: 0,5  |
| Діапазон налаштування температури | від +20 до +300 °C   |
| Температурний сенсор              | 1 датчик Pt100 DIN класу А в 4-провідній схемі   |
| ControlCOCKPIT                    | SingleDISPLAY. Адаптивний багатофункціональний цифровий ПД-мікропроцесорний контролер з кольоровим TFT-дисплеєм високої чіккості |
| Таймер                            | Цифровий зворотний лічильник із налаштуванням цільового часу, що регулюється від 1 хвилини до 99 днів                            |

Закінчення.

Таблиця 3

| 1                                | 2  |
|----------------------------------|--|
| Функція SetpointWAIT             | час процесу не починається, доки не буде досягнуто заданої температури   |
| Калібрування                     | три вільно вибираються значення температури  |
| Регульовані параметри            | температура, швидкість вентилятора, положення повітряної заслінки, час програми, часові пояси, літній/зимовий час  |
| Вентилятор                       | примусова циркуляція повітря за допомогою 2 тихих повітряних турбін, що регулюються з кроком 10%   |
| Вентиляційний отвір              | вентиляційне з'єднання з обмежувальною заслінкою   |
| Програмування                    | Програмне забезпечення AtmoCONTROL для зчитування, керування та організації реєстратора даних через інтерфейс Ethernet   |
| Контроль температури             | регульований електронний датчик перегріву та механічний обмежувач температури ТВ, клас захисту 1 згідно з DIN 12880 для вимкнення опалення при бл. 20°C вище номінальної температури   |
| Двері                            | повністю ізольовані двері з нержавіючої сталі з 2-точковим замком (компресійний дверний замок)   |
| Внутрішні органи                 | 2 решітки з нержавіючої сталі, електрополіровані   |
| Матеріал                         | Нержавіюча сталь   |
| Розміри внутрішньої камери       | ширина (A) x в (B) x d (C) : 1040 x 1200 x 850 мм (d менше 39 мм для вентилятора)  |
| Об'єм                            | 1060 л   |
| Макс. кількість внутр.           | 14   |
| Макс. завантаження камери        | 300 кг   |
| Макс. навантаження на внутр.     | 20 кг  |
| Габаритні розміри                | Ш (Г) x в (B) x Г (Ш) : 1224 x 1720 x 1035 мм (D +56 мм дверна ручка)  |
| Монтаж                           | на коліщатах, що замикаються. Відстань між стіною та задньою частиною приладу має бути не менше 15 см. Відстань від стелі має бути не менше 20 см, а бічна відстань від стін або сусідніх приладів не повинна бути менше 5 см. |
| Напруга, електричне навантаження | 400 В і 3x 230 В без нейтралі, 50/60 Гц при бл. 7000 Вт  |

По завершенню процесу отримання субстанції, висушений бацитрацин цинку подається на стадію приготування цільового ЛЗ.

#### РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ СУБСТАНЦІЇ)

Обладнання, що використовується на етапі виділення та очистки субстанції, визначено у відповідності до результатів підбору – Таблиця 4.

Таблиця 4 – Специфікація, що використовується на етапі виділення та очистки субстанції

| Позиція | Найменування  | Кількість | Технічна характеристика   |
|---------|---|-----------|---|
| 1       | 2   | 3         | 4   |
| 3-28    | Збірник культуральної рідини                        | 1         | Збірник культуральної рідини, об'єм 5 м <sup>3</sup>  |
| Н-29    | Насос перекачування культуральної рідини            | 1         | Відцентровий насос ОНЦ для харчової промисловості ОНЦ 1/10 К5 (0,55x3000) (ГК «Насоси та ущільнення»); подача – 0,1 – 2,5 м <sup>3</sup> /год; напір – 10 – 3 м; допустимий кавітаційний запас – 2 м; частота обертання – 2900 об/хв; потужність електродвигуна – 0,55 кВт; вага – 7,5 кг   |
| Н-31    | Насос перекачування нативного розчину               | 1         |   |
| Н-34    | Насос перекачування суспензії бацитрацину           | 1         |   |
| Н-50    | Насос перекачування екстракту                       | 1         |   |
| Ц-30    | Центрифуга виділення біомаси з культуральної рідини | 1         | Центрифуга фільтрувальна періодичної дії з автоматичним вивантаженням осаду. Центрифуга GK1600 з ножовим вивантаженням осаду (АТ «СМНВО – Інжиніринг») [90]: діаметр барабану, мм – 1600; довжина барабану, мм – 800; об'єм барабану, л – 690; максимальне завантаження, кг – 930; частота обертання, об/хв – 950; чинник поділу – 808; потужність двигуна, кВт – 90; габарити (Д × Ш × В), мм – 4200×2750×2300; маса, кг – 15000 |
| Е-32    | Екстрактор бацитрацину                              | 1         | Рідинний протипоточний тарілчастий екстрактор RDC (Koch Modular) [91]: продуктивність, м <sup>3</sup> /м <sup>2</sup> -год – 20–30; тип апарату – рідинний; тип контактору – тарілки; перемішування – осьове; регулювання продуктивності, % – 40; об'єм, л – 650. Особливості експлуатації – підходить для в'язких матеріалів, підходить для обростаючих матеріалів   |

|  |                  |                    |                    |             |
|--|------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>  |                  |                    |                    |             |
| <i>Змн</i>   | <i>Арк.</i>      | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i>      | <i>Дата</i> |
| <i>Розроб</i>  | <i>Волошин</i>   |                    |                    |             |
| <i>Перевір.</i>  | <i>Воронцов</i>  |                    |                    |             |
| <i>Консульта</i>   |                  |                    |                    |             |
| <i>Н. Контр.</i>   |                  |                    |                    |             |
| <i>Затверд.</i>  | <i>Стабніков</i> |                    |                    |             |
| <b>РОЗДІЛ 4. ОГЛЯД<br/>СПЕЦИФІКАЦІЯ<br/>ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ<br/>ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ</b> |                  |                    | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> |
|  |                  |                    |                    |             |
|  |                  |                    | 75                 | 3 77        |
|  |                  |                    | <b>Кафедра БТМ</b> |             |

| 1    | 2   | 3 | 4   |
|------|---|---|---|
| P-33 | Реактор осадження бацитрацину цинку                         | 1 | Біореактор (реактора-змішувача) <i>Himiks</i> [92]: тип – реактор-змішувач для перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу; режим функціонування – періодичний / безперервний; об'єм, л – 75; підтримання температури у сорочці, °С, до – 160; тиск, бар, до – 4; можливість працювати під вакуумом – +; тип імелеру – лопатевий  |
| Ф-35 | Друк-фільтр для фільтрування суспензії бацитрацину          | 1 | Друк-фільтр ДСЕв 0,8-11-12-01 ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.» [93]: робочий надлишковий тиск, МПа – 0,04; допустима температура стінки в корпусі, °С при рН=14 - від -20 до +80; при рН=13 - від -20 до +90; при рН=12 - від -20 до +110; при рН=11 - від -20 до +130; в нейтральному середовищі - від -20 до +150; в кислому середовищі - від -20 до +200; Поверхня фільтрації, м <sup>2</sup> – 0,8; Об'єм, м <sup>3</sup> – 1,0; D, мм – 1000; l, мм – 1130; l <sub>1</sub> , мм – 315; l <sub>2</sub> , мм – 510; l <sub>3</sub> , мм – 670; l <sub>4</sub> , мм – 1000; d, мм – 1212; довжина, L, мм – 2020; ширина, B, мм – 1256; висота, H, мм – 1680; маса, кг – 1140  |
| C-36 | Сушильна шафа для одержання сухого антибіотичного препарату | 1 | Сушильна шафа <i>UF1060 Memmert GmbH + Co. KG</i> [94]: діапазон робочих температур – не менше 5 (UN/UNplus/UNm/UNmplus) або 10 (UF/UFplus/UFm/UFmplus) вище температури навколишнього середовища до +300 °С; точність встановлення температури – до 99,9 °С: 0,1 / від 100 °С: 0,5; діапазон налаштування температури – від +20 до +300 °С; температурний сенсор – 1 датчик Pt100 DIN класу А в 4-провідній схемі; ControlCOCKPIT – SingleDISPLAY. Адаптивний багатофункціональний цифровий ПД-мікропроцесорний контролер з кольоровим TFT-дисплеєм високої чіккості; таймер – цифровий зворотний лічильник із налаштуванням цільового часу, що регулюється від 1 хвилини до 99 днів; функція SetpointWAIT – час процесу не починається, доки не буде досягнуто заданої температури; калібрування – три вільно вибираються значення температури; регульовані параметри температура, швидкість вентилятора, положення повітряної заслінки, час програми, часові пояси, літній/зимовий час; вентилятор – примусова циркуляція повітря за допомогою 2 тихих повітряних турбін, що регулюються з кроком 10%; вентиляційний отвір – вентиляційне з'єднання з обмежувальною заслінкою; |

Закінчення.

Таблиця 3

| 1    | 2                   | 3 | 4  |
|------|---------------------|---|--|
|      |                     |   | <p>програмування – програмне забезпечення AtmoCONTROL для зчитування, керування та організації реєстратора даних через інтерфейс Ethernet; контроль температури – регульований електронний датчик перегріву та механічний обмежувач температури ТВ, клас захисту 1 згідно з DIN 12880 для вимкнення опалення при бл. 20°C вище номінальної температури; двері – повністю ізольовані двері з нержавіючої сталі з 2-точковим замком (компресійний дверний замок); внутрішні органи – 2 решітки з нержавіючої сталі, електрополіровані; матеріал – нержавіюча сталь; розміри внутрішньої камери – ширина (А) х в (В) х d (С) : 1040 х 1200 х 850 мм (d менше 39 мм для вентилятора); об'єм – 1060 л; макс. кількість внутр. – 14; макс. завантаження камери – 300 кг; макс. навантаження на внутр. – 20 кг; габаритні розміри – Ш (Г) х В (В) х Г (Ш) : 1224 х 1720 х 1035 мм (D +56 мм дверна ручка); монтаж – на коліщатах, що замикаються. Відстань між стіною та задньою частиною приладу має бути не менше 15 см. Відстань від стелі має бути не менше 20 см, а бічна відстань від стін або сусідніх приладів не повинна бути менше 5 см; напруга, електричне навантаження – 400 В і 3х 230 В без нейтралі, 50/60 Гц при бл. 7000 Вт</p> |
| Д-53 | Кульковий млин      | 1 | <p>Ball mill MBL-NK-80<br/> Розмір сировини: &lt;20мм<br/> Розмір помелу: 100...200 мкм<br/> Потужність: 25 кг/год</p>   |
| С-54 | Просіювальна машина | 1 | <p>Ranger separator<br/> 4 яруси сита<br/> Найменший розмір: 20 мкм<br/> Продуктивність: 150 кг/год</p>  |
| П-55 | Пакувальний апарат  | 1 | <p>Hawo hpl 500 D/ D-V<br/> Стрічковий пакувальний апарат для великої кількості полімерних матеріалів з шириною запайної стрічки 6мм. Швидкість: 10 м/хв</p>   |

## РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

### *ТП 5 Відділення біомаси від культуральної рідини*

Культуральна рідина після етапу ферментації в ферментаторі ФР-25 за допомогою насосу Н-27 надходить до збірника З-28, в якому відбувається усереднення та охолодження до температури 22-25 °С. Збірник слугує буферною ємністю, що дозволяє забезпечити запас культуральної рідини та забезпечити ритмічність виробництва цільового ЛЗ.

#### *ТП 5.1 Центрифугування культуральної рідини*

Після досягнення температури 22 – 25 °С, культуральна рідина надходить на стадію центрифугувальної фільтрації: насос Н-29 (ОНЦ 1/10 К5 (0,55x3000)) перекачує технологічний потік на центрифугу Ц-30 (GK1600).

По завершенню процесу центрифугування відбувається виділення супернатанту, а твердий осад вивантажується у допоміжний контейнер та надходить до складування та знезараження. Супернатант по насосу Н-31 перекачується в збірник З-51, потім стадію ТП 6.1.

### *ТП 6 Обробка супернатанту*

#### *ТП 6.1 Екстракція бацитрацину в протиточному екстракторі*

Від збірника З-51 супернатант подається насосом Н-56 в рідинний протипоточний екстрактора Е-32 (RDC). Застосовується одноступенева періодична рідинна екстракція з інтегрованими перемішувачами пристроями тарільчастого типу. В даний екстрагуючий апарат подається бутанол ( $C_4H_9OH$ ) в співвідношенні 1:2, що є активним кисневмісним екстрагентним розчинником. По закінченню процесу отримують суспензію яка надходить на стадію декантації ТП 6.2

|                  |             |                    |               |             |   |                    |             |                |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---|--------------------|-------------|----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>   |                    |             |                |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> |   |                    |             |                |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             | <b>РОЗДІЛ 5. ОПИС<br/>ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ<br/>ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО<br/>ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ</b> | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |   |                    | 78          | 3              |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             |   | 80                 |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             |   | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |   |                    |             |                |

## *ТП 6.2 Декантація*

Розчин бутанола та відпрацьований осад з екстрактора на процедуру декантації (відокремлення цільового продукту), після чого осад надходить на утилізацію, а бутаноловий екстракт в збірник З-52. Після чого на стадію ТП 7.1.

## **ТП 7 Осадження бацитрацину**

### *ТП 7.1 Осадження бацитрацину цинку*

Екстракт з етапу ТП 6.2 подається за допомогою насоса Н-50 до реактора, що оснащений лопатевим імпелером. Надалі в реактор-змішувач Р-33 надається концентрований розчин хлориду цинку в співвідношенні 0,28% до активності бацитрацину, що дозволяє отримати концентрований осад бацитрацину цинку. Робота лопатевого імпелеру (перемішування) здійснюється протягом 15 хв, при швидкості обертання ротору імпелеру – 150 об/хв.

По закінченню процедури осадження, отриманий осад бацитрацину насосом Н-34 (ОНЦ 1/10 К5 (0,55x3000)) подається на подальшу стадію технологічного процесу виділення субстанції для цільового ЛЗ – друк-фільтрацію (ТП 6.3). Відпрацьовані реагенти надходять на знезараження, після цього до (Т 1.0), надходить на очисні споруди.

## **ТП 8 Фальтрування бацитрацину цинку**

### *ТП 8.1 Фільтрування осаду*

Суспензія насосом Н-34 подається на концентраційне фільтрування у друк-фільтрі Ф-35 (ДСЕв 0,8-11-12-01). Він подається у верхню частину друк-фільтру Ф-35, де після створення надлишкового тиску (до 0,04 МПа), проходить через фальш-дно апарату (фільтрувальну перегородку), на поверхні якої формується густий фільтрант, а фільтрат утворюється у нижній частині Ф-35 складається з води (подається на утилізацію) та бутанолу (на регенерацію)

Вивантажена осаду бацитрацину цинку ручним способом подається на стадію ТП 9.1 сушка.

## ***ТП 9 Одержання сухого порошку бацитрацину цинку***

### ***ТП 9.1 Сушка бацитрацину цинку***

Осад бацитрацину цинку ручним способом завантажується на полиці внутрішнього об'єму шафи-сушарки С-36 (UF1060), після чого на одну годину і при температурі 50 °С вологість 10% здійснюється осушення з утворенням порошку бацитрацину цинку, що надходить на стадію подрібнення– ТП 10.1

## ***ТП 10 Подрібнення, та просіювання порошку***

### ***ТП 10.1 Подрібнення***

Сушу масу бацитрацину цинку відправляють у кульковий 4х планетарний млин Д-53 Ball mill MBL-NK-80 [105], для отримання однорідного порошку 100 мкм. Після чого відправляють на стадію просіювання на ТП 7.3.

### ***ТП 10.2 Просіювання***

Подрібнені кристали бацитрацину цинку просіюють через механічне сито С-54 Ranger separator [104] з фракцією <100 мкм, все що не просіялось повертають на млин ТП 11.1 Далі просіяний бацитрацин відправляється на стадію ТП 7.4

## ***ТП 11 Фасовка, маркування та запайка***

### ***ТП 11.1 Фасовка, маркування та запайка***

Бацитрацин фасують по 1 кг на пакет, запаюють за допомогою пакувального апарату П-55 Havo hp1 500 D/ D-V [102] та маркують. Відправляють на зберігання в контрольоване приміщення до подальшого використання.

## РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛЗ

### 6.1 Мікробіологічний контроль

Проба простерилізованого поживного середовища відбирається в об'ємі, як правило, 50 мл і здійснюють прямим висівом на агаризовані середовища. Контроль здійснюють шляхом розсівання проби простерилізованого поживного середовища (або стерильної композиції поживного середовища перед змішуванням) на чашки Петрі з відповідним агаризованим поживним середовищем і подальшим інкубуванням.

Виконання посівів. Посіви здійснюються шляхом відбору 0,1 мл з об'єма проби стерильною піпеткою і нанесення її на поверхню СА – для виявлення грибів і дріжджів і МПА – для виявлення бактерій. Суспензія рівномірно розподіляється по поверхні середовища штрихом за допомогою стерильної бактеріологічної петлі. Чашки з посівами поміщаються у термостат за температури 30 °С. Аналіз посівів здійснюється, починаючи з 6 години. На поверхні поживних середовищ візуально визначається відсутність ознак росту мікроорганізмів [78 – 89].

Мікробіологічний контроль чистоти культури здійснюється двома шляхами: прямим висівом на агаризовані поживні середовища і мікроскопіюванням.

Прямий висів здійснюється посівом культуральної рідини до ізольованих колоній на чашки Петрі з м'ясо-пептонним агаром для виявлення сторонніх бактерій, сусло-агаром або глюкозо-картопляним агаром – грибів та дріжджів.

Для ідентифікації штаму *B. licheniformis* DW2 використовується висів на LB-агар та мікроскопіювання.

|            |             |                    |               |             |   |      |         |  |  |
|------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---|------|---------|--|--|
|            |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>           |      |         |  |  |
| <b>Змн</b> | <b>Арк.</b> | <b>№ документа</b> | <b>Підпис</b> | <b>Дата</b> |   |      |         |  |  |
| Розроб     |             | Волошин            |               |             | Літ.                                      | Арк. | Акрюшів |  |  |
| Перевір.   |             | Воронцов           |               |             |   | 81   | 4       |  |  |
| Консульта  |             |                    |               |             | <b>РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ<br/>ВИРОБНИЦТВА</b> |      |         |  |  |
| Н. Контр.  |             |                    |               |             |   |      |         |  |  |
| Затверд.   |             | Стабніков          |               |             |   |      |         |  |  |
|            |             |                    |               |             | 83<br><b>Кафедра БТМ</b>                  |      |         |  |  |

Мікроскопіювання проводиться світловим мікроскопом з імерсійною системою.

Методика мікроскопіювання [78 – 89]. Для приготування препарату на чисте знежирене предметне скло, в асептичних умовах, за допомогою стерильної петлі наноситься невелика краплина культуральної рідини і розподіляється рівномірно на площі 1-4 см<sup>2</sup>, роблячи якомога тонший мазок. Мазок висушується без нагрівання, при кімнатній температурі, до повного випаровування вологи. Препарат фіксується, тричі провівши скло з препаратом через верхню частину пальника. Фіксований препарат заливається кількома краплями барвника – метиленового синього. Барвник розподіляється по всій поверхні мазка. Препарат фарбується протягом 5 хв. Потім фарба зливається та препарат добре промивається дистильованою водою. Скло з країв протирається фільтрувальним папером, препарат висушується при кімнатній температурі. Потім на абсолютно сухий препарат наноситься краплина імерсійного масла. Мікроскопіювання відбувається під великим збільшенням мікроскопа ( $\times 90$ ). Після роботи ваткою, змоченою етиловим спиртом, знімаються залишки масла з імерсійного об'єктива.

## **6.2 Визначення активності бацитрацину**

Було вибрано метод згідно ДФУ як Е-тест.

Е-тест - це вузька полімерна смужка (0,5 x 6,0 см), на яку нанесений градієнт концентрацій АБП (від мінімальних до максимальних). Пригнічення росту мікроорганізму навкруги смужки Е-тесту відбувається тільки в тій зоні, де концентрація АБП, що дифундує з носія, вище МІК, при цьому утворюється краплеподібна зона інгібіції. Значення концентрацій АБП на кожній ділянці носія нанесені на зовнішній (звернений до дослідника) поверхні Е-теста. Величину МІК враховують в тому місці, де межа зони пригнічення росту впритул підходить до носія. Детальні інструкції про

визначення чутливості з використанням Е-тестів додаються виробником до набору.

### 6.3 Кількісне визначення бацитрацину

Методика визначення [78 – 89]. Підготовка зразку: Рідку фракцію після культивування центрифугують при 30000 об/хв протягом 5 хвилин потім змішують з чотирма об'ємами 50% етанолу, і перемішують протягом 5 хвилин і вносять в колонку.

Обладнання: Визначення проводиться за методом ВЕРХ на обладнанні Agilent HPLC 1260 (Agilent Technologies, США), оснащене колонкою Agilent Eclipse Plus C18 (4,6 мм × 150 мм, 3,5 мкм).

Умови проведення: Рухома фаза, А (0,05 моль/л  $K_2HPO_4$  і 0,05 моль/л  $KH_2PO_4$ ); В (13:1 об./об. метанол-ацетонітрил), 35/65 (об./об.); швидкість потоку, 1,0 мл/хв; виявлення, 254 нм УФ; об'єм ін'єкції 20 мкл; температура 30 °С.

### 6.4 Карта постадійного контролю

Карта постадійного контролю процесу отримання субстанції для отримання цільового ЛЗ антибіотичного спектру дії – Таблиця 5.

Таблиця 5 – Карта постадійного контролю

|  |   |                        |   |                    |
|--|---|------------------------|---|--------------------|
| Кт 6.1<br>Екстракція<br>бацитрацину в<br>протиточному<br>екстракторі | Тиск процесу                            | Манометр               | Протягом<br>процесу                       | P=0,2–0,3 МПа      |
| Кт, Кх 6.2<br>Осадження<br>бацитрацину цинку                         | Температура,<br>водневий<br>показник рН | Термометр, рН-<br>метр | Протягом<br>процесу та у<br>кінці процесу | t=37 °С,<br>рН=3,5 |

Закінчення.

Таблиця 3

|   |                                 |                                   |                     |                      |
|---|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------|----------------------|
| Км 6.3<br>Фільтрування<br>розчину                         | Мікро-<br>біологічна<br>чистота | Мікробіо-<br>логічний<br>контроль | В кінці процесу     | C=10 КОЕ в<br>100 мл |
| Кт 7.1<br>Одержання сухого<br>антибіотичного<br>препарату | Температура                     | Термометр                         | Протягом<br>процесу | t=50 °C              |
| Кт.7.2<br>Подрібнення                                     | Величина<br>фракції             | Мікроскопіюва<br>ння              | Після роботи        | <120кмк              |
| Кт. 7.3<br>Просіювання                                    | Розмір<br>фракції               | Поверхи<br>просіювача             | Під час роботи      | <120кмк              |
| Кт.7.4<br>Пакування                                       | Герметичніст<br>ь запаювання    | Взуально                          | Протягом<br>процесу | Герметично           |

## РОЗДІЛ 7. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ЛЗ

### 7.1 Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік

За результатами розрахунків – 2.2 Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції, встановлено:

- потенційна річна кількість пацієнтів, що скористаються проектним ЛЗ становить 906 770 ос.;
- медіанна тривалість лікування шкірних захворювань з застосуванням проектного ЛЗ складає 2-3 курси протягом 7 днів з використанням 0,5 – 2 г за один раз. Таким чином, на 1 курс використовується від 7 до 42 г засобу, що в середньому приймемо 24,5 г, що у середньому становить 20 г мазі в одній дозі;
- з урахуванням потенційної кількості пацієнтів, що скористаються проектним ЛЗ річна кількість дозованого ЛЗ складає 906 770 од, що у ваговому еквівалентні складає – 18 135,4 кг мазі.

### 7.2 Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень

#### 7.2.1 Підготовка персоналу

Забезпечення належного санітарно-гігієнічного стану персоналу є основою підготовки персоналу до проведення технологічних процесів.

|                  |             |                    |               |             |   |                    |             |                |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---|--------------------|-------------|----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>               |                    |             |                |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> |   |                    |             |                |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             | <b>РОЗДІЛ 7.<br/>ОБҐРУНТУВАННЯ<br/>ВИБОРУ</b> | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |   |                    | 85          | 23             |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             |   |                    |             | 87             |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             |   | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |   |                    |             |                |

До роботи в цеху з виробництва м'яких лікарських засобів допускається персонал якому виповнилося 18 років, який пройшов інструктаж з техніки безпеки який є обов'язковими при прийомі на роботу, пройшов стажування на робочому місці, здав іспит з охорони праці перед тим як приступити до самостійної роботи. Також персонал має бути навчений згідно вимог GMP та робочих інструкцій. Періодично персоналу проводиться перепідготовка та тестування в процесі роботи.

На початку роботи персонал має провести обробку рук за наступним принципом: змочити руки теплою водою, ретельно помити їх до ліктів мильним розчином; далі висушити паперовим рушником; після проведених процедур вилити на руки з дозатора не менше 3 мл дезінфікуючого розчину, розпроділити його по поверхні рук та висушити.

До роботи у виробничих приміщеннях не допускається персонал який має відкриті рани на поверхні шкіри, висипи та у хворобливом стані, [78 – 89].

Технологічний одяг повинен використовуватись на протязі однієї робочої зміни. Він може бути як одноразового, так і багаторазового використання, але за умови передачі після зміни на перепідготовку. До перепідготовки одягу входять наступні технологічні етапи: прання, висушування, обробка температурою, пакування.

Для робітників, що працюють із живильними культурами та поживними середовищами після прання одяг додатково стерилізують.

Одяг розподіляється за типом в залежності від процесу в якому задіяний робітник, причиною є забезпечення захисту продукції від контамінації, як мікробної, так і механічними частками.

Опис одягу для різних класів чистоти приміщень – Таблиця 6 [78 – 89].

Таблиця 6 – Перелік вимог до персоналу та одягу відповідно до класів чистоти [78 – 89].

|          |   |
|----------|---|
| Клас D   | Борода, волосся - закриті. Звичайний захисний одяг, взуття/бахіли відповідні.   |
| Клас C   | Борода, вуса, волосся - закриті. Комбінезон, чи брючний костюм, що має високий комір та прилягання на зап'ястях.. Взуття та бахіли – відповідно до одягу.   |
| Клас A/B | Борода, вуса – заховані, волосся – закрите повністю головним убором. Обличчя прикривається маскою. Руки закриті простерилізованими, ненапудреними рукавичками з гуми. Ноги – бахіли, що одягаються мають бути або простерилізованими, або продезинфікованими, також штанини мають бути заправлені в бахіли. |

Доцільно використовувати клас чистоти для виробництва мазі – клас D.

### 7.2.2 Підготовка миючих та дезінфікуючих засобів

Підбір дезінфікуючих розчинів до використання на підприємстві проводиться на основі ефективності та економічних показників. Під час приготування даних розчинів необхідно дотримуватись правил безпеки.

Розчини для дезінфекції підбираються таким чином, щоб не були шкідливими для людини. Приготовлені розчини забороняється доливати в неспорожнені резервуари [78 – 89].

#### *Приготування розчину миючого засобу*

Концентрація вихідного миючого засобу для жирних середовищ повинна бути 1,5% Neomoskan (термін придатності приготованого розчину – 30 діб). Засіб готується в реакторі-змішувачі. Через дозатор до реактору подається концентрований миючий засіб, а через другий дозатор – додається питна вода. Надалі відбувається інтенсивне перемішування компонентів.

Призначення розчину є миття обладнання, вузлів обладнання, комунікацій.

Під час приготування здійснюють контроль концентрації приготованого мийного розчину.

### *Приготування розчину 3% перекису водню*

Розчин перекису водню використовують для мийки приміщень, дезінфекції обладнання. Приготування перекисо-водневого розчину відбувається в реакторі-змішувачі, в який через дозуючий пристрій відбувається подача концентрованого перекису водню, через інший дозатор надходить вода питна. Проводиться перемішування компонентів з контролем концентрації отриманого дезінфікуючого розчину.

### *Приготування 70 % ізопропілового спирту*

Розчин ізопропілового спирту використовують для дезінфекції частин обладнання, що контактує з продуктом. Для приготування 70 % ізопропіловий спирт використовується реактор-змішувач, в який через дозуючий пристрій відбувається подача концентрованого 99% ізопропілового спирту, а через інший дозатор – вода питна. Надалі проводиться перемішування компонентів з контролем концентрації отриманого дезінфікуючого розчину.

### **7.2.3 Підготовка вентиляційного повітря**

Забір атмосферного повітря через повітрязабірник (ПЗ-1) на висоті 3 м над дахом, з мінімальним вмістом пилових часток і мікроорганізмів та передача на наступну стадію фільтрування.

Подача повітря на фільтр (Ф-2), з затримуючою здатністю 80 %, для очистки від пилу та механічних часток.

Стиснення повітря в системі до тиску - 0,4 МПа компресором (К-3).

Охолодження повітря до 19 °С у теплообміннику (Т-4), з подальшим зріджуванням крапель вологи і її затримки в ресивері (Р-5). Вологість після ресивера має бути не більше 60 %.

Нагрів охолодженого повітря до температури 30 °С в теплообміннику (Т-6).

### **7.2.4 Підготовка виробничих приміщень**

Стадія підготовки приміщень має на меті приведення мікробних та механічних контамінантів до мінімальних показників.

Проведення дезінфекції повинне забезпечувати пониження показника концентрацій мікроорганізмів орієнтовно на – 35-60 %.

До цієї стадії входять такі дії як: сухе прибирання, вологе прибирання та дезінфекція приміщень.

На початку та в кінці виробничих процесів проводиться миття та дезінфекційна обробка приміщень, таке прибирання класифікується як щоденне. Під час даних процесів найбільше уваги приділяють чистоті обладнання та підлоги. [78 – 89].

При переході з препарат на препарат проводиться щотижнева підготовка приміщень. Під час щотижневої підготовки приміщень додатково очищають і дезинфікують стіни, стелю.

В приміщеннях проводиться мікробіологічний контроль та контроль наявності механічних часток в повітрі. Приміщення контролюються в оснащеному та експлуатаційному стані.

#### **7.2.5 Підготовка обладнання та комунікацій**

Якість продукції безпосередньо пов'язана з станом обладнання, особливо з його чистотою. Тому даний етап має на меті обробку комунікацій та обладнання як до, так і після технологічних процесів.

Під час даного етапу є обов'язковими – мийка, дезінфекція обладнання.

Поверхні обладнання, що контактують з речовинами та продукцією, мають складатися з матеріалів, що не вступають з ними в реакції та не повинні виділяти речовин, що негативним чином можуть впливати на рівень якості продукції.

Персонал що проводить підготовку обладнання має бути забезпечений спецодягом який класифікований для відповідного класу чистоти та засобами індивідуального захисту.

Мийка вузлів та поверхонь обладнання відбувається розчином миючих засобів. Частина обладнання, що мають контакт з препаратом попередньо знімаються та розбираються для миття.

Дезінфекція зовнішніх поверхонь обладнання проводиться з використанням дезінфікуючих розчинів, НП – перекис водню концентрації 3%. Дезінфекція частин обладнання, що контактують з продуктом проводиться 70% ізопропіловим спиртом. Контроль мікробіологічної чистоти проводиться з певною встановленою періодичністю в залежності від результатів проведених кваліфікацій обладнання [78 – 89].

Ополіскування проводиться очищеною водою. Залишки миючих та дезінфікуючих речовин ретельно змиваються та на далі проводиться перевірка якості та повноти видалення цих засобів. Відходи передаються на стадію знешкодження [78 – 89].

### **7.2.6 Визначення та обґрунтування класів чистоти виробничих приміщень**

Зважаючи на наведені вище умови проведення технологічних процесів виробництва цільового ЛЗ антибіотичного спектру дії, а також нормативні вимоги, що зафіксовані в СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 [95] та ДСТУ ISO 14644-1:2009 [96] – Таблиця 7.

Таблиця 7 – Класи приміщень для виробництва ЛЗ [95, 96]

| Клас | Максимально допустима кількість часток в 1 м <sup>3</sup> повітря при розмірі часток однаковому чи більшому за зазначений |         |                     |               |
|------|---|---------|---------------------|---------------|
|      | Оснащений стан  |         | Експлуатований стан |               |
|      | 0,5 мкм   | 5,0 мкм | 0,5 мкм             | 5,0 мкм       |
| A    | 3 520   | 20      | 3 520               | 20            |
| B    | 3 520   | 29      | 352 000             | 2 900         |
| C    | 352 000   | 2 900   | 3 520 000           | 29 000        |
| D    | 3 520 000   | 29 000  | не нормується       | не нормується |

Відповідно до наведеної класифікації для зон приготування та дозування ЛЗ та напівфабрикатів застосовуються клас D.

### 7.3 Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

За результатами проектних рішень – **2.2.2 Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ЛЗ**, встановлено, що первинна упаковка для цільового ЛЗ антибіотичного спектру дії є алюмінієві туби.

Алюмінієва туба використовується для фасування мазей, фарб, клеїв, мастил та тих продуктів, які дуже чутливі до проникнення повітря всередину. У алюмінієвої туби відсутня властивість зворотної деформації після натискання, що запобігає попаданню повітря всередину туби при її використанні.

Алюмінієва туба виготовляється з алюмінієвої рондолі методом екструзії на екструзійному пресі, де відбувається її первинне формування. Туба може при цьому проводитися із закритим мембраною носиком, який представляє контроль першого розтину. На наступному етапі на токарному автоматі відбувається обробка туби з видаленням задирок, обрізанням хвоста туби на потрібну довжину і з нарізкою різьблення для бушона-ковпачка. У печі відпалу проводиться термічна обробка щойно сформованої туби для зняття внутрішніх деформацій матеріалу, що виникають у ході екструзії та надання тубі м'якості при натисканні. На автоматі внутрішнього лакування відбувається покриття внутрішньої поверхні туби шаром лаку для усунення можливих негативних наслідків у майбутньому контакту продукту усередині туби зі стінками туби. Лак закріплюється на стінках туби печі полімеризації. В автоматі зовнішньої ґрунтовки відбувається нанесення на зовнішню стінку туби спеціальної ґрунтовки, як підкладки для фарби. Потім на тубу наноситься малюнок згідно оригінал-макету за допомогою 4-х, 6-ти або 8-ми кольорових друкарських машин. Малюнок закріплюється у печі сушіння. Печі бувають із газовим або електричним підігрівом [78 – 89].

На заключному етапі виробництва використовується машина для автоматичного нагвинчування бушонів (кепер). Обов'язково

використовується латексна машина, що наносить смужку латексу на хвіст туби з внутрішньої сторони. Це покращує якість завальцювання хвоста туби після її заповнення продуктом і запобігає просоченню кисню. Також може використовуватися машина пакування готових туб. Лінії виробництва алюмінієвих туб поставляються зі змінним оснащенням для різних діаметрів.

Мазі містять лікарські та допоміжні речовини з різноманітними фізичними та хімічними властивостями, що зумовлюють можливість їх взаємодії як з атмосферними факторами, так і з матеріалом тари, упаковки чи закупорювання.

Туби алюмінієві для медичних мазей виготовляються двох типів: звичайні та з подовженим носиком. Обидва типи туб випускаються в різних обсягах.

Однією із заключних стадій виробництва м'яких лікарських форм є фасування та упаковка лікарського засобу.

На всіх процесах упаковки лікарських засобів має бути забезпечений необхідний рівень чистоти, матеріали для виготовлення первинної упаковки не повинні впливати на стабільність та фармако-терапевтичні властивості закупорених лікарських засобів.

Мазі, що містять воду і леткі речовини, повинні упаковуватися в ємності, що запобігають їх випаровуванню. В сучасному фармацевтичному виробництві фасування мазей і кремів здійснюється в туби, виготовлені з алюмінію.

Для запобігання контамінації лікарського засобу мікроорганізмами, перед фасуванням лікарського засобу туби проходять мікробіологічний контроль.

## **7.4 Обґрунтування вибору підготовки води**

### **7.4.1 Очистка на механічному фільтрі**

Насосом Н-19 водопровідна вода подається на механічний фільтр Ф-20, який призначено для очистки води від механічних домішок, наприклад, піску, оксидів заліза, колоїдних сполук, тощо. Вона проходить шари матеріалу або суміші з кварцового піску, гідроантрациту, алюмосилікату. Під час механічної очистки сепаруються частинки, розмір яких більше 25 мкм.

Вода, яка вже пройшла механічну очистку, потрапляє на наступний етап – знезалізнення.

На цьому етапі здійснюється контроль тиску, вмісту оксидів заліза та колоїдних сполук у воді [78 – 89].

#### **7.4.2 Знезалізнення**

Вода з фільтру Ф-20 поступає на фільтр каталітичного знезалізнення Ф-21, у якому прискорюються процеси окиснення заліза, сірководню та марганцю на каталізаторах, а також затримання продуктів даного окиснення в шарі каталізатору та видалення домішок. Вода проходить крізь шар зернистого матеріалу, функцію якого виконують каталізатори. Залізо, сірководень та марганець взаємодіють з розчиненим киснем, який було адсорбовано на поверхні каталізатору або з активними центрами самого каталізатору та затримуються на самому фільтрі. Вода після знезалізнення потрапляє на наступний етап.

Під час якого здійснюється контроль тиску та вмісту Fe, H<sub>2</sub>S та Mn у воді.

#### **7.4.3 Очистка на вугільному фільтрі**

Вода від фільтру Ф-21 подається на адсорбційний фільтр Ф-22, у якому і очищується від хлору, високомолекулярних органічних сполук, хлорорганічних сполук, пестицидів, гербіцидів, діоксинів, радіонуклідів, катіонів перехідних та важких металів, тощо. Вода проходить крізь шар зернистого матеріалу, а саме крізь шар адсорбенту – активованого вугілля, який адсорбує на собі домішки. Після очистки води на вугільному фільтрі, вона подається на етап пом'якшення.

На цьому етапі контролюється тиск, вміст хлору, важких металів, органічних сполук та радіонуклідів [78 – 89].

#### **7.4.4 Пом'якшення**

Вода від Ф-22 подається на фільтр для пом'якшення Ф-23, де відбувається процес  $\text{Na} -$  катіонування, за рахунок чого знижується концентрація катіонів кальцію та магнію. Вода, потрапляючи у фільтр, на якому міститься іонообмінний матеріал, обмінює катіони магнію та кальцію на катіони натрію, які відносяться до комплексу катіоніту. Після пом'якшення вода постачається на зворотно-осмотичну установку.

На цьому етапі здійснюється контроль тиску та вмісту іонів магнію та кальцію.

#### **7.4.5 Зворотній осмос**

Від фільтру для пом'якшення Ф-23 вода, через насос Н-24, подається на установку зворотного осмосу ЗУ-25 для здійснення тонкої очистки. Для цього вода проходить крізь пористу мембрану, на якій адсорбуються та затримуються розчинні солі, органічні та неорганічні молекули з молекулярною масою більше 100, а також пірогенні речовини та мікроорганізми. На даному етапі контролюються тиск та температура.

#### **7.4.6 Знезараження ультрафіолетом**

Очищена вода за методом зворотного осмосу подається у бактерицидну установку БУ-26 від установки зворотного осмосу ЗУ-25, яка представляє собою установку з ультрафіолетовою лампою, у якій відбувається знезараження ультрафіолетом за довжини хвилі  $\lambda = 254$  нм.

Отримана очищена вода надходить на зберігання до збірника Зб-27 і вже через трубопроводи подається безпосередньо на виробництво.

На етапі знезараження ультрафіолетом контролюється довжина хвилі та відсутність у воді мікробних контамінантів [78 – 89].

### **7.5 Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання**

### 7.5.1 Загальні вимоги до цільового ЛЗ

З м'яких лікарських засобів для зовнішнього застосування найчастіше використовують мазі, які складаються з маzewої основи та рівномірно розподіленої в ній лікарської речовини. Мазі - це м'які лікарські засоби для місцевого застосування, дисперсійне середовище яких при встановленій температурі зберігання має неньютонівський тип течії та високі значення реологічних параметрів. Вони є високов'язкими рідинами, здатними утворювати на поверхні шкіри або слизової оболонки рівну суцільну плівку. Мазі є офіційною лікарською формою, призначеною для нанесення на шкіру, рану чи слизові оболонки.

Якщо раніше мазі розглядалися головним чином як лікарська форма для лікування дерматологічних захворювань, то вони досить широко використовуються в хірургії, проктології, гінекології, офтальмології та інших галузях медицини.

Слід зазначити той факт, що мазі знаходять все ширше застосування як засоби для діагностики та попередження різних захворювань, а також як засоби, що впливають на рецепторні поля низки внутрішніх органів та весь організм загалом. Таким чином, мазі залежно від їхньої терапевтичної дії застосовуються [78 – 89]:

- з метою нанесення захисного покриву на шкіру або слизові оболонки, що ізолює покриту ділянку від шкідливих газів, органічних розчинників, забруднення пилом тощо;
- для нанесення лікарських речовин на поверхню ран при опіках, попрілості, обмороження тощо;
- для нанесення лікарських речовин на поверхню неушкодженої шкіри з метою локального лікування її захворювань (місцева дія) або для того, щоб забезпечити проникнення лікарських речовин через шкіру в кров'яне русло або лімфатичні судини для впливу

на патологічні процеси, що протікають у внутрішніх органах (загальна дія);

- для лікування захворювань піхви та приготування протизапальних засобів;
- для лікування захворювань прямої кишки та для надання загальної дії на організм шляхом резорбції через слизову оболонку кишечника;
- для нанесення лікарських речовин на хворі на слизові оболонки очей і носа;
- для лікування чи видалення волосся;
- для нанесення на шкіру із волосяним покривом інсектицидних засобів;
- для косметичних цілей: пом'якшення шкіри, видалення пігментних плям і ластовиння, живлення шкіри і т. д.

Фармакологічний ефект мазей значною мірою залежить від: фізико-хімічної природи, концентрації та агрегатного стану лікарських та допоміжних речовин; технології виготовлення; структурно-механічних (реологічних) властивостей мазі (в'язкості, пластичності, пружності та ін.); способу нанесення, області застосування та стану шкіри або слизової оболонки; факторів зовнішнього та внутрішнього середовища (вологості, температури та ін.).

Вимоги, що пред'являються мазям, обумовлені як способом застосування, так і складністю складу цієї лікарської форми: Мазі повинні мати м'яку консистенцію для зручного нанесення їх на шкіру і слизові оболонки з утворенням на поверхні рівної суцільної плівки [78 – 89].

Для досягнення необхідного терапевтичного ефекту та точності дозування лікарські речовини у мазях повинні бути максимально дисперговані та рівномірно розподілені по всій масі лікарського засобу. Мазі, як і інші лікарські форми, повинні бути стабільними і не містити механічних

включень. Склад мазей не повинен змінюватись при використанні та зберіганні. Концентрації лікарських речовин у мазі повинні відповідати рецептурі відповідної нормативної документації.

### **7.5.2 Визначення етапів приготування цільового ЛЗ**

Виробництво мазей на фармацевтичних підприємствах здійснюється відповідно до технічних регламентів, розроблених на основі наукових досліджень, та зосереджено у спеціальних цехах, оснащених необхідним обладнанням. Технологічний процес знаходиться під суворим контролем, оскільки будь-яке відхилення від регламенту може призвести до зниження до зниження якості продукції, що випускається.

Технологічна схема виробництва мазей складається з наступних стадій [78 – 89]:

1. Підготовка приміщень.
2. Підготовка обладнання.
3. Підготовка сировини
4. Зважування сировини.
5. Приготування основи для мазей та лікарських речовин.
6. Введення лікарських речовин у основу.
7. Гомогенізація.
8. Охолодження.
9. Фасування та упаковка.

На кожній стадії виробництва здійснюється контроль якості продукції.

Підготовка виробництва ведеться відповідно до вимог технологічних регламентів і включає підготовку приміщення та обладнання, вентиляційного повітря, персоналу, а також первинного пакування.

Для проектного ЛЗ основа для мазі – порошок бацитрацину цинку, етапи отримання якого описані вище.

Гомогенізація мазей необхідна, якщо перемішуванні не вдається отримати необхідний ступінь дисперсності лікарських речовин.

Внутрішньоцеховий контроль мазей здійснюється практично на кожній стадії виробництва і особливо перед фасуванням препарату. Остаточний висновок за всіма показниками якості готової продукції дає відділ контролю якості.

### **7.5.3 Апаратно-апаратурний супровід виробництва цільового ЛЗ**

Апаратно-апаратурне оформлення виробництва комбінованої мазі бацитрацину цинку та неоміксину сульфату встановлюється відповідно до встановлених попередньо технологічних рішень.

Гомогенізація мазей (для виробництва суспензійних мазей). Це специфічна стадія, оскільки при перемішуванні не завжди досягається необхідний ступінь дисперсності субстанції. Тому мазі у заводських умовах піддають гомогенізації.

Для гомогенізації мазей застосовують також спеціальні апарати – гомогенізатори, що мають різний пристрій [78 – 89]:

- у гомогенізаторах одного типу грубодисперсна емульсія під високим тиском продавлюється через вузькі канали та щілини.
- у гомогенізаторах іншого типу емульсія під впливом відцентрової сили, що виникає при обертанні диска, продавлюється через щілини в цьому диску, розпорошуючись до стану туману. Емульсія подається через порожнисту вісь

У гомогенізуючих змішувачах з багатоканальним корпусом рідкі інгредієнти можуть подаватися безпосередньо в зону кавітації гомогенізатора, причому подача здійснюється безпосередньо під ротором гомогенізатора. При працюючому гомогенізаторі фаза, що подається, об'єднується і диспергується

з фазою із змішувальної ємності в зоні високих зусиль кавітації, тобто в області найбільшої щільності енергії.

Технологічно-конструктивна варіативність змішувачів гомогенізаторів має широкий спектр рішень – Рисунок 20 [78 – 89].

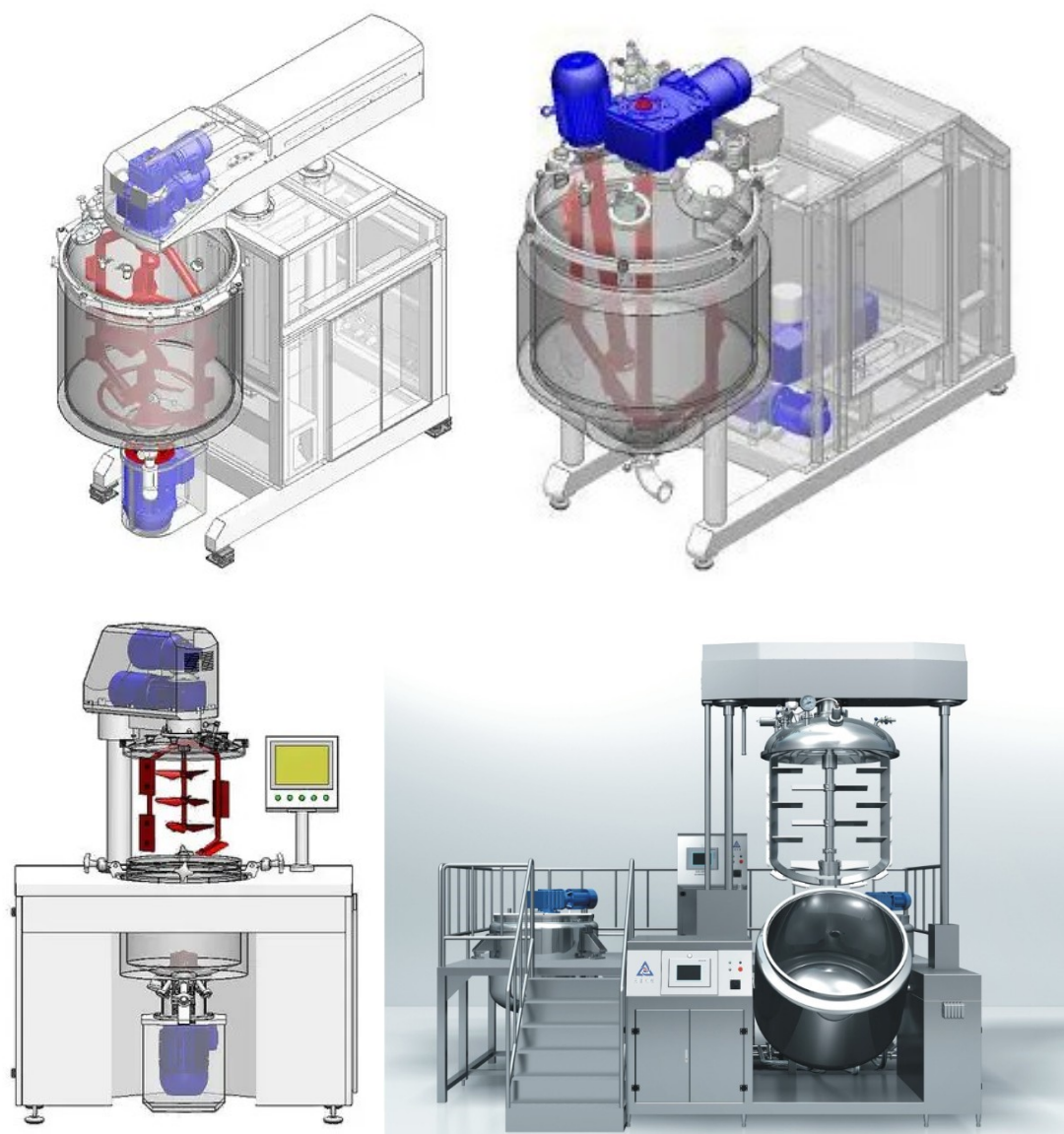


Рисунок 20 – Технологічно-конструктивна варіативність змішувачів гомогенізаторів [78 – 89]

За результатами огляду технологічно-конструктивної варіативності рішень змішувачів гомогенізаторів, що застосовуються в фармацевтичній промисловості (Рисунок 20), а також, зважаючи на технологічні особливості

процесу (процес здійснюється в умовах вакууму), у якості апарату для приготування цільового антибіотичного ЛЗ у формі мазі з бацитрациом цинку та неоміксином сульфату використаємо вакуумний міксер-гомогенізатор *Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)* [97] – Рисунок 21, Таблиця 8.



Рисунок 21 – Загальний вид вакуумного змішуючого гомогенізатора *Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)* [97]

Таблиця 8 – Технічна характеристика вакуумного змішуючого гомогенізатора *Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)* [97]

| Параметр                   | Змішуючий гомогенізатор <i>Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)</i> [97]                           |
|----------------------------|--|
| 1                          | 2  |
| Загальний об'єм резервуару | 720 л  |
| Робочий об'єм резервуару   | 600 л  |
| Мінімальне завантаження    | 150 л  |
| Резервуар                  | вертикальний циліндричний, що перекидається, з фланцями, оснащений сорочкою з подвійними стінками. |

Закінчення. Таблиця 8

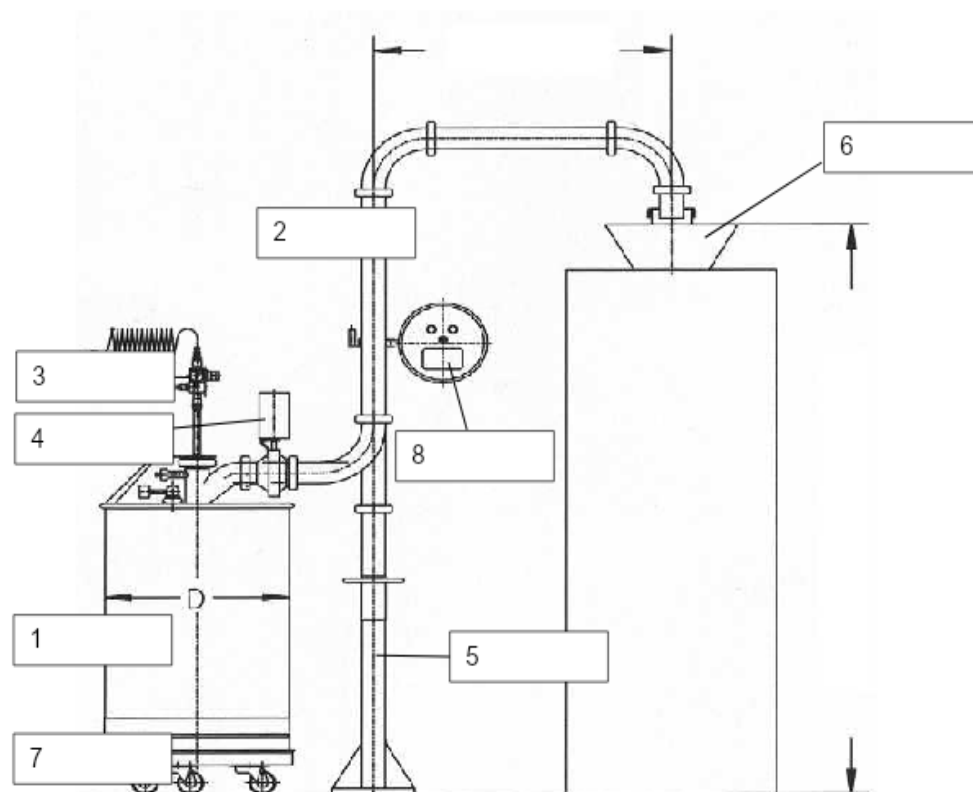
| 1  | 2   |
|--|---|
| Підігрів                                 | подвійна сорочка із зворотною системою          |
| Охолодження                              | холодною водою                                  |
| Режим роботи резервуару                  | при нормальному атмосферному тиску/під вакуумом |
| Швидкість системи повільного переміщення | 0-35 об./хв                                     |
| Швидкість швидкої гомогенізуючої системи | 0-2800 об/хв                                    |
| Загальна настановна потужність           | 34 кВт (стандартна машина без опцій)            |
| Електричні характеристики                | 400 В, 3 фази, 50 Герц + N + T                  |
| Захист                                   | IP 54   |
| Стандартні розміри                       | 2790 x 1450 x 2800/4050 мм (висота) – хв./макс. |
| Вага нетто                               | 4150 кг   |
| Змішувальний двигун                      | 0,50 кВт  |
| Двигун турбіни                           | 3,00 кВт  |
| Вакуумний насос                          | 0,75 кВт  |
| Нагрівальні елементи                     | 6 кВт   |

Мобільна Бочка MULLER [103] – Рисунок 21, Таблиця 8 для подачі готового ЛЗ на машину наповнення.

Сучасна система вивантаження пастоподібного продукту. Принцип роботи полягає в плунжері який за допомогою стисненого повітря видавлює суміш в потрібній кількості на машину наповнення, таким чином розгрузка мазі йде не зверху в низ залишаючи на стінках до 5% продукту + комунікації, а видавкюється практично вся мазь за допомогою плунжера який розсташонавний на дні бочки.

Середовища які потрібує обладнання для роботи, електроенергія для суміжного датчика рівня на машині наповнення, стиснене повітря для підняття плунжера.

Загальний вигляд обладнання



1. Бочка «Мюллер» (ємність 200л, робоча ємність 180 л);
2. Трубопровід продукту
3. Редуктор подачі стисненого повітря;
4. Пневмоклапан

5. Сійка трубопроводу продукту
6. Бункер фасувальної машини
7. Транспортуючий візок
8. Блок управління системи контролю

Рисунок 22 – Загальний вид мобільної бочки MULLER [103]

Таблиця 19 – Технічна характеристика мобільної бочки MULLER [103]

| Параметр             | Мобільні Бочки MULLER [103] |
|----------------------|-----------------------------|
| Обєм                 | 200л                        |
| Робочий обєм         | 180л                        |
| Діаметр              | 580мм                       |
| Робочий тиск повітря | 1,0 бар                     |
| Виробник             | «Muller» Німеччина          |

Турбомульсифікатор (*Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)* [97]) – апарат з потрійним співвісним перемішуючим пристроєм, що дозволяє контролювати та керувати параметрами середовища всередині ємності:

температура, тиск та вакуум, швидкість перемішування. Апарат спеціально розроблений для виготовлення стабільних емульсій (кремів, косметичного молочка, бальзамів, лосьйонів, зубної пасти, майонезу тощо), при цьому забезпечується надзвичайно дрібний розмір частинок суміші. Область застосування – середні та великі фармацевтичні, косметичні, харчові та хімічні виробництва.

Модифікація має оновлений дизайн і стандартне виконання включено:

- *Touch Screen Display*, який є основним елементом системи управління;
- зовнішні листи із нержавіючої сталі;
- безступінчасте регулювання швидкостей «повільної» мішалки та вузла гомогенізації від 0 об/хв до 3000 обертів;
- повільне перемішування, що противертається, з тефлоновими скребками;
- гомогенізуюча турбіна (швидкість до 3000 об/хв);
- кольорова панель керування;
- механічний підйом кришки;
- механічний нахил трубопровода для полегшення розвантаження готової продукції;
- центральні нижні клапани для всмоктування сировини та вивантаження напівпродукту;
- оглядове вікно зі світлом для перевірки фаз змішування;

Якщо передбачено наявність картонної упаковки, в якій зберігатиметься продукт, труби відправляються на упаковку в картонну коробку.

Враховуючи рекомендації [78 – 89] у якості тубонаповнювального агрегату призначаємо – *Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)* [99] – Рисунок 22, Таблиця .

Таблиця 20 – Технічна характеристика тубонаповнюючої машини *Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)* [99]

| Параметр             | Тубонаповнююча машина <i>Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)</i> [99] |
|----------------------|--|
| Продуктивність       | до 60 туб на хвилину   |
| Можливість фасування | від 2 до 250 мл  |
| Діаметр туби         | 10-50 мм   |
| Висота туби          | 60-280 мм  |
| Станцій              | 8  |



Рисунок 22 – Загальний вид тубонаповнюючої машини *Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)* [99]

Автоматична машина *Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)* [99] для наповнення та закриття туб із алюмінію, поліетилену або металу має наступні властивості:

- максимальний вихід 3,800 од/год;
- панель керування із сенсорним екраном;
- автоматичне завантаження туб із магазину туб;

- автоматичне положення туби;
- автоматичне наповнення механічною системою дозування з дозуванням від 2 до 250 мл;
- занурювальне сопло для точного дозування дна туби, фіксований хід 70 мм;
- механічна система закриття губок для алюмінієвих туб із простою або подвійною складкою;
- пайка гарячим повітрям для ламінованих та поліпропіленових туб;
- система герметизації повітря для поліетиленових, ламінованих та поліпропіленових туб;
- ультразвукова система спайки для поліетиленових туб.
- автоматична система складування наповнених туб.

Пакування туб з ЛЗ у вторинну упаковку виконується за допомогою картонажного агрегату – *Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions)* [100] – Рисунок 23, Таблиця 9.



Рисунок 23 – Загальний вид картонажної машини *Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions)* [100]

Таблиця 9 – Технічна характеристика картонажної машини *Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions)* [100]

| Параметр                  | Картонажна машина <i>Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions)</i> [100] |
|---------------------------|---|
| 1                         | 2   |
| Тип викладання            | Горизонтальна   |
| Продуктивність за хвилину | 80  |
| Ширина пачки від, мм      | 1   |
| Ширина пачки до, мм       | 50  |
| Довжина пачки від, мм     | 1   |
| Довжина пачки до, мм      | 50  |
| Висота пачки від, мм      | 1   |
| Висота пачки до, мм       | 50  |

Машинна призначена для формування картонних коробок та упаковки в них різних банок, бульбашок, блістерів, тубиків, ампул, пакетиків, продуктів та інших різноманітних виробів та товарів, а також додаткових вкладень має і при цьому підтримує максимально широкий діапазон розмірів коробок [100].

Для транспортування ЛЗ, заповненого у вторинну упаковку доцільно здійснювати групове пакування. З цією метою використовуємо автомат для

групового пакування *Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions)* [101] –  
Рисунок 24, Таблиця 10.



Рисунок 24 – Загальний вид автомату для групового пакування *Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions)* [101]

Таблиця 10 – Технічна характеристика автомату для групового пакування *Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions)* [101]

| Параметр                 | Автомат для групового пакування <i>Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions)</i> [101] |
|--------------------------|--|
| Продуктивність           | 60 упаковок/хв   |
| Довжина картонного ящика | 200-600 мм   |
| Ширина картонного ящика  | 105-400 мм   |
| Висота картонного ящика  | 70-350 мм  |

*BOX 20KT* – це автомат для групового пакування різних типів продуктів у картонну тару.

Автомат формує основні ящики-лотки різних модифікацій та розмірів.

Однією з можливостей є система різного угруповання продуктів – наприклад, 3×4, 2×6 тощо. Наступною можливістю є додаткова секція машини, що дозволяє формувати та класти кришку на групове впакування.

Управління вільно програмується, що дозволяє плавно регулювати довжину мішка, продуктивність машини та дозувати тимчасові товари.

## РОЗДІЛ 8. ВИРОБНИЧА РЕЦЕПТУРА ТА МАТЕРІАЛЬНИЙ БАЛАНС НА ЛЗ

Виробнича рецептура та матбаланс розрахований на серію ЛЗ, що складає теоретичний вихід 540 кг або 27000 туб (розмір серії).

Для розрахунку матбалансу на серію необхідно враховувати кількість компонентів з яких складається мазь.

Мазь має наступний склад згідно виробничої рецептури (Таблиця 11).

Таблиця 12 – Склад згідно виробничої рецептури

| Найменування сировини                  | Склад на 100 г | Маса компонентів для одержання однієї серії мазі 540 кг |
|--|----------------|---|
| Неоміксин сульфат                      | 0,714          | 3,8556  |
| Бацитрацин цинк (власного виробництва) | 0,386          | 2,0844  |
| Ланолін                                | 7,45           | 40,23   |
| Парафін білий м'який                   | 6,35           | 34,29   |
| Олія мінеральна                        | 22,4           | 120,96  |
| Вода очищена                           | 62,7           | 338,58  |
| Всього                                 | 100            | 540,0   |

Матеріальний баланс серії з урахуванням втрат (Таблиця 24).

Таблиця 13 – Матеріальний баланс серії

| Витрачено                               |           |     | Одержано                                    |             |   |
|---|-----------|-----|---|-------------|---|
| Найменування сировини та напівпродуктів | Кількість |     | Найменування кінцевого продукту та відходів | Кількість   |   |
|   | кг        | шт. |   | кг          | шт.   |
| Сировина:                               |           |     | Готовий продукт:                            |             |   |
| Неоміксин сульфат                       | 3,8556    | -   | Кінцевого продукту, мін та max вихід        | 497,0-523,0 | 25200-26700 туб<br>210-223 ящиків по 120 пачок) |
| Бацитрацин цинк (власного виробництва)  | 2,0844    | -   |   |             |   |
| Ланолін                                 | 40,23     | -   |   |             |   |

|                  |                  |                    |               |             |   |  |  |                    |             |                  |
|------------------|------------------|--------------------|---------------|-------------|---|--|--|--------------------|-------------|------------------|
|                  |                  |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>                   |  |  |                    |             |                  |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i>      | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>РОЗДІЛ 8. .<br/>ВИРОБНИЧА<br/>РЕЦЕПТУРА ТА</b> |  |  |                    |             |                  |
| <i>Розроб</i>    | <i>Волошин</i>   |                    |               |             |   |  |  | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акронішів</i> |
| <i>Перевір.</i>  | <i>Воронцов</i>  |                    |               |             |   |  |  |                    | 108         | 3 110            |
| <i>Консульта</i> |                  |                    |               |             |   |  |  | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                  |
| <i>Н. Контр.</i> |                  |                    |               |             |   |  |  |                    |             |                  |
| <i>Затверд.</i>  | <i>Стабніков</i> |                    |               |             |   |  |  |                    |             |                  |

| Парафін білий м'який                  | 34,29  | -     | Втрати:                               |           |       |
|---------------------------------------|--------|-------|---------------------------------------|-----------|-------|
|                                       |        |       | при приготуванні та вивантаженні      | 6,0-3,0   | -     |
| Олія мінеральна                       | 120,96 | -     | при фасуванні                         | 30,0-10,0 | -     |
| Вода очищена                          | 338,58 | -     | при пакуванні                         | 7,0-4,0   |       |
| Разом:                                | 540,0  | -     | Разом:                                | 540,0     | -     |
| Матеріали:                            |        |       | Відходи:                              |           |       |
| Туб по 20 г                           | -      | 27234 | Туб по 20 г                           | -         | 0-534 |
| Інструкцій для медичного застосування | -      | 27100 | Інструкцій для медичного застосування | -         | 0-400 |
| Пачок                                 | -      | 27100 | Пачок                                 | -         | 0-400 |
| Ящиків                                | -      | 225   | Ящиків                                | -         | 0-2   |
| Етикеток групових                     | -      | 225   | Етикеток групових                     | -         | 0-2   |

**Примітка:\*** - Технічна маса може бути змінена в залежності від значень показників згідно СП, по яким ведеться розрахунок.

**\*\*** - Кількість сировини вказана з врахуванням втрат при зважуванні та завантаженні. Маса вмісту туби не менше 20 г.

Кількість пакувальних матеріалів розрахована на максимальний вихід готового продукту 26700 туб.

**\*\*\*** - Кількість сировини вказана з врахуванням втрат при зважуванні та завантаженні.

Кількість пакувальних матеріалів розрахована на максимальне значення виходу готового продукту на 26700 туб:

- Розрахунок кількості отриманих туб мазі на серію: з огляду на те, що у нас реактор на 600 л робочого об'єму, зробимо коефіцієнт заповненості -10% тобто 540 л, що дорівнює 540 кг.
- Кількість серій за рік:  
 $18135,4 \text{ кг} / 540 = 33.58 \text{ серій/рік}$  тобто  $33,58/12 = 3 \text{ серії}$  в місяць  
 $540 \text{ кг} / 20 \text{ г} = 27000 \text{ туб}$  на серію теоретичний розмір серії.
- Розрахунок потужності стадії фасування мазі в туби. Беремо регламентну швидкість та розраховуємо з коефіцієнтом доступності на рівні 90% , так як 10% часу це очистки обладнання, технічне обслуговування.

$$3800 \times 0,9 = 3420 \text{ туб годину}$$

Час витрачений на фасування серії буде:

$$27000 / 3420 = 7,89 \text{ годин}$$

- Розрахунок кількості отриманих туб за 1 рік:

$$27000 \times 33,58 = 906660 \text{ туб}$$

- Кількість годин фасування за 1 рік

$$33,59 \times 7,89 = 265,0 \text{ годин}$$

Таким чином повністю покривається попит на ринку.

## РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ ОТРИМАННЯ ЛЗ)

Обладнання, що використовується на етапі отримання ЛЗ, визначено у відповідності до результатів підбору – Таблиця .

Таблиця 25 – Обладнання, що використовується на етапі отримання ЛЗ

| Позиція | Найменування                         | Кіл-ть | Технічна характеристика   |
|---------|--------------------------------------|--------|---|
| 1       | 2                                    | 3      | 4   |
| Г-37    | Змішувачий гомогенізатор             | 1      | Змішувачий гомогенізатор – турбомульсифікатор <i>Axomix 600 (GVP Equipment Solutions)</i> [97]: загальний об'єм резервуару – 720 л; робочий об'єм резервуару – 600 л; мінімальне завантаження – 150 л; резервуар – вертикальний циліндричний, що перекидається, з фланцями, оснащений сорочкою з подвійними стінками; підігрів – подвійна сорочка із зворотною системою; охолодження – холодною водою; режим роботи резервуару – при нормальному атмосферному тиску/під вакуумом; швидкість системи повільного перемішування – 0-35 об./хв; швидкість швидкої гомогенізуючої системи – 0-2800 об/хв; загальна настановна потужність – 34 кВт (стандартна машина без опцій); електричні характеристики – 400 В, 3 фази, 50 Герц + N + T; захист – IP 54; стандартні розміри – 2790 x 1450 x 2800/4050 мм (висота) – хв./макс.; вага нетто – 4150 кг; змішувальний двигун – 0,50 кВт; двигун турбіни – 3,00 кВт; вакуумний насос – 0,75 кВт; нагрівальні елементи – 6 кВт |
| Д-38    | Дозатор інтегрований в гомогенізатор | 1      | Дозатор високов'язких речовин <i>NDP1000-03 NEMO® NDP (NETZSCH Pumps &amp; Systems)</i> [98]: об'єм дозування (мл/об.) – 4; кількість дозування мін. (мл) – 1; швидкість потоку (мл/хв) – 26-800; швидкість дозування макс. (од/хв) – 200   |
| Т-39    | Тубонаповнююча машина                | 1      | Тубонаповнююча машина <i>Axomatic Axo 800 (GVP Equipment Solutions)</i> [99]: продуктивність – до 60 туб на хвилину; можливість фасування – від 2 до 250 мл (і до 500 л опціонально); діаметр туби – 10-50 мм (60 опціонально); висота туби – 60-280 мм; станцій – 8  |

|                  |             |                    |               |             |   |             |                |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---|-------------|----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>                         |             |                |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> |   |             |                |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             | <b>РОЗДІЛ 9.<br/>СПЕЦИФІКАЦІЯ<br/>ОБЛАДНАННЯ (ЕТАПИ</b> |             |                |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |   |             |                |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             |   |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             |   |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |   |             |                |
|                  |             |                    |               |             | <i>Літ.</i>   | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
|                  |             |                    |               |             |   | 111         | 2              |
|                  |             |                    |               |             | 113<br><b>Кафедра БТМ</b>                               |             |                |

Закінчення. Таблиця 8

| 1    | 2                               | 3 | 4   |
|------|---------------------------------|---|---|
| К-40 | Картонажна машина               | 1 | Картонажна машина <i>Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions)</i> [100]: тип викладання – горизонтальна; продуктивність за хвилину – 80; ширина пачки від, мм – 1; ширина пачки до, мм – 50; довжина пачки від, мм – 1; довжина пачки до, мм – 50; висота пачки від, мм – 1; висота пачки до, мм – 50 |
| П-41 | Автомат для групового пакування | 1 | Автомат для групового пакування <i>Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions)</i> [101]: продуктивність – 60 упаковок/хв; довжина картонного ящика – 200-600 мм; ширина картонного ящика – 105-400 мм; висота картонного ящика – 70-350 мм   |
| М-56 | Бочка Мюллер                    | 3 | Робочий об'єм 180л<br>Робочий тиск 1,0 бар<br>Максимальна загрузка 180л   |

## РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОТРИМАННЯ ЛЗ

### *ТП 12 Приготування напівпродукту в змішувачі-гомогенізаторі*

Процес приготування основи мазі складається із завантаження допоміжних речовин та подачі води очищеної через дозатор Д-38 в змішувач гомогенізатор Г-37. Після завантаження олії мінеральної, парафіну та ланоліну відбувається розчинення компонентів при 70-75 °С протягом 30-40 хв. При змішуванні використовується лопатева та якірна мішалки – швидкість обертання 13 об/хв та 27 об/хв відповідно.Г-37

Вакуумний змішувач гомогенізатор має автоматичне регулювання процесів та можливість встановлення режимів в залежності від процесу.

#### *ТП 12.1 Емульгування основи мазі*

Емульгування основи мазі відбувається при глибині вакууму від -0,05 до -0,06 МПа протягом 10 хв. Швидкості обертання мішалок: лопатева – 60 об/хв, якірна – 30 об/хв, турбінна – 2800 об/хв. Температура емульгування – 70-75 °С.

#### *ТП 12.2 Деградація-руйнування емульсії*

Після емульгування маса вистояється при тому ж тиску протягом 20-30 хв. Під час проведення процесу руйнування газової емульсії, візуально контролюється процес піноутворення і рівень піни у вакуумному змішувачі-гомогенізаторі. У випадку утворення значного об'єму піни вакуум скидають, а потім знов набирають до зникнення піноутворення

#### *ТП 12.3 Охолодження основи мазі*

Процес охолодження проходить до температури маси 50-55 °С протягом 10 хв. Під час охолодження швидкість обертів якірної мішалки – 14 об/хв, лопатевої – 30 об/хв. Турбінний гомогенізатор включають на одну хвилину з періодичністю в 10 хв. При швидкості 2800 об/хв.

|                  |             |                    |               |             |  |                    |             |                 |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|--|--------------------|-------------|-----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>                                  |                    |             |                 |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>РОЗДІЛ 10 . ОПИС<br/>ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ<br/>ОТРИМАННЯ ЛЗ</b> | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акрівшів</i> |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             |  |                    | <i>113</i>  | <i>3</i>        |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |  | 115                |             |                 |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             |  | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                 |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             |  |                    |             |                 |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |  |                    |             |                 |

#### *ТП 12.4 Додавання діючих речовин*

Порошок неоміксину сульфату (підготовлений) та бацитрацину цинку вручну завантажуються в вакуумний змішувач-гомогенізатор.

Перемішування суміші інгредієнтів відбувається при тих же умовах що й емульгування, за виключенням, того що гомогенізатор працює протягом всього процесу на швидкості 2800 об/хв. Тривалість – 5хв.

Охолодження напівпродукту відбувається до температури 35-37 °С при відключеній турбінній мішалці. Проводиться контроль температури мазі за рахунок чого відбувається регулювання тривалості процесу.

#### ***ПМВ 13 Фасування та пакування ЛЗ***

##### *ТП 13.1 Вивантаження напівпродукту*

Напівпродукт вивантажується із змішувача-гомогенізатора ЗГ-43 за допомогою стисненого повітря в пересувні бочки Mullera 3 шт. по 180 кг. Заповнені бочки передаються на стадію фасування

##### *ПМВ 13.2 Наповнювання туб на тубонаповнювальній машині*

Мобільні бочки Mullera M-55 підкатують до матеріальної лінії та за допомогою стисненого повітря напівпродукт завантажуються в машину для наповнення туб ФП-45. Туби з бушонами поміщають в накопичувальний бункер тубонаповнювальної машини. Фасування напівпродукту в автоматичному режимі. Готовий розфасований продукт направляється на пакування у вторинну упаковку.

##### *ПМВ 13.3 Пакування готової продукції*

Пакування розфасованих туб в пачку з інструкцією проходить на автоматичній машині Axomatic Axo 106 (GVP Equipment Solutions) [100].

##### *ПМВ 13.4 Пакування в груповий короб*

Пакування пачок в груповий короб проходить на автоматичній машині для групового пакування Box 20KT Nomatech (GVP Equipment Solutions) [101]

#### ***ПВ 14 Переробка відходів***

Забраковані пакувальні матеріали передаються до організації з переробки вторсировини.

### ***ЗВ 15 Знешкодження відходів***

Відпрацьовані реактиви поступають на знешкодження відходів поступають після робіт з підготовки виробничих приміщень та обладнання.

Промивні води після очищення обладнання збирають в контейнери для нейтралізації стічних вод, розводять їх в 3-4 рази, після чого доводять рН середовища до 7,0. Після цього відпрацьовану воду можна зливати в каналізаційну систему. На даному етапі відбувається знезараження води до мінімальної допустимої концентрації.

Відпрацьовані фільтри збираються та передаються організації, яка безпосередньо займається екологічно правильною утилізацією [78 – 89].

## РОЗДІЛ 11. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ЛЗ

Карта постадійного контролю по допоміжним та технологічним операціям при виробництві бацитрацину штамом *B. licheniformis DW2* – Таблиця

Таблиця 26 – Карта постадійного контролю по допоміжним та технологічним операціям при виробництві бацитрацину штамом *B. licheniformis DW2*

| Номер контрольної точки та назва стадії                     | Об'єкт контролю і показник, що визначається | Засоби та методи контролю | Періодичність перевірки та порядок відбору проб | Нормативна характеристика показника, що визначається |
|---|---|---------------------------|---|--|
| 1   | 2   | 3                         | 4   | 5  |
| Кт 6.1<br>Екстракція бацитрацину в протиточному екстракторі | Тиск процесу                                | Манометр                  | Протягом процесу                                | P=0,2–0,3 МПа  |
| Кт, Кх 6.2<br>Осадження бацитрацину цинку                   | Температура, водневий показник рН           | Термометр, рН-метр        | Протягом процесу та у кінці процесу             | t=37 °С,<br>рН=3,5                                   |
| Км 6.3<br>Фільтрування розчину                              | Мікробіологічна числота                     | Мікробіологічний контроль | В кінці процесу                                 | C=10 КОЕ в 100 мл                                    |
| Кт 7.1<br>Одержання сухого антибіотичного препарату         | Температура                                 | Термометр                 | Протягом процесу                                | t=50 °С  |
| Кт 8.1<br>Емульгування основи мазі                          | Температура, тиск                           | Термометр, манометр       | Протягом процесу                                | t=70–75 °С<br>P=-0,05 МПа                            |

|                  |                  |                    |               |             |   |  |  |                    |             |                |
|------------------|------------------|--------------------|---------------|-------------|---|--|--|--------------------|-------------|----------------|
|                  |                  |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b>               |  |  |                    |             |                |
| <i>Змн</i>       | <i>Арк.</i>      | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> | <b>РОЗДІЛ 11. КОНТРОЛЬ<br/>ВИРОБНИЦТВА ЛЗ</b> |  |  |                    |             |                |
| <i>Розроб</i>    | <i>Волошин</i>   |                    |               |             |   |  |  | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
| <i>Перевір.</i>  | <i>Воронцов</i>  |                    |               |             |   |  |  |                    | 116         | 2              |
| <i>Консульта</i> |                  |                    |               |             |   |  |  | 118                |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |                  |                    |               |             |   |  |  | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                |
| <i>Затверд.</i>  | <i>Стабніков</i> |                    |               |             |   |  |  |                    |             |                |

## Закінчення. Таблиця

| 1  | 2   | 3                      | 4                   | 5   |
|--|---|------------------------|---------------------|---|
| Кт 8.2<br>Деградація-<br>руйнування<br>емульсії    | Тиск  | Манометр               | Протягом<br>процесу | $P=-0,05$ МПа                                 |
| Кт 8.3<br>Охолодження<br>основи мазі               | Температура   | Термометр              | Протягом<br>процесу | $t=50-55$ °С                                  |
| Кт 8.4<br>Додавання діючих<br>речовин              | Температура,<br>тиск                                    | Термометр,<br>манометр | Протягом<br>процесу | $t=30-35$ °С<br>$P=-0,05$ МПа                 |
| Кт 9<br>Фасування та<br>пакування<br>напівпродукту | Правильність<br>маркування та<br>пакування<br>продукції | Візуально              | В кінці процесу     | Належна<br>якість<br>маркування,<br>пакування |

## РОЗДІЛ 12. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД

### 12.1 Склад і загальні відомості про препарат

Неоміцин плюс являє собою однорідний м'який лікарський засіб.

Мазь повинна відповідати вимогам цих ТУ і виготовлятися згідно з чинною технологічною інструкцією та рецептурами з дотриманням чинних державних санітарних норм і правил, затверджених у встановленому порядку.

#### Загальні відомості

- діючі речовини: бацитрацин цинку; неоміцину сульфат;
- 1 г препарату містить бацитрацину цинку; неоміцину сульфату;
- допоміжні речовини: ланолін, олія мінеральна, парафін білий м'який.

**Лікарська форма:** мазь.

**Основні фізико-хімічні властивості:** біла з жовтуватим відтінком однорідна мазь. Допускається легкий специфічний запах.

#### Фармакодинаміка

Неоміцин плюс - комбінований антибактеріальний препарат для зовнішнього застосування, який містить два бактерицидних антибіотики із синергічною дією. Бацитрацин - поліпептидний антибіотик, активний головним чином щодо грампозитивних мікроорганізмів, таких як гемолітичний стрептокок, стафілокок, Clostridium spp ., Corynebacterium diphtheriae , Treponema pallidum, а також відносно деяких грамнегативних патогенних мікроорганізмів, таких як Neisseria spp . і Haemophilus influenzae. Спектр дії препарату включає також актиноміцети і фузобактерії.

| Змн       | Арк. | № документа | Підпис | Дата | НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ                            |             |      |         |
|-----------|------|-------------|--------|------|---|-------------|------|---------|
| Розроб    |      | Волошин     |        |      | РОЗДІЛ 12. ОПИС<br>ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ<br>ЗГІДНО АНД | Літ.        | Арк. | Акрюшів |
| Перевір.  |      | Воронцов    |        |      |   |             | 118  | 14      |
| Консульта |      |             |        |      |   | 120         |      |         |
| Н. Контр. |      |             |        |      |   | Кафедра БТМ |      |         |
| Затверд.  |      | Стабніков   |        |      |   |             |      |         |

Стійкі до бацитрацину штами зустрічаються рідко.

### **Фармакокінетика**

Оскільки всмоктування бацитрацину і неоміцину через уражену шкіру незначне, максимальна концентрація препарату досягається у місці застосування. Тканинна переносимість оцінюється як відмінна, інактивація біологічними продуктами, кров'ю і тканинними компонентами не відзначається. Якщо препарат наносити на значні уражені ділянки шкіри, слід брати до уваги можливість абсорбції препарату та її наслідки (див. розділи «Побічні реакції», «Особливості застосування»).

### **Клінічні характеристики**

Показання. Місцеве лікування та профілактика бактеріальних інфекцій шкіри, спричинених чутливими до препарату мікроорганізмами:

- фурункули, карбункули (після хірургічного втручання), абсцеси (після розтину), сикоз, у т.ч. глибокий, у ділянці підборіддя, гнійний гідраденіт, псевдофурункульоз, пароніхії;
- бактеріальні інфекції шкіри обмеженого ступеня, у т.ч. контагіозне імпетиго, інфіковані варикозні виразки, вторинні інфекції при екземі, інфекції при опіках, після косметичної хірургії і пересадки шкіри (також із профілактичною метою та при застосуванні пов'язок);
- як допоміжна терапія при лікуванні інфікованих ран (наприклад, при зовнішньому отиті, вторинному інфікуванні хірургічних рубців).

## **12.2 Характеристики ЛЗ**

Органолептичні показники – Таблиця 14.

Таблиця 14 – Органолептичні показники

| Назва показника  | Характеристика                                       | Метод контролювання згідно з |
|------------------|--|------------------------------|
| Зовнішній вигляд | Має бути однорідним                                  | ДСТУ 5009:2008               |
| Колір            | Прозора чи майже прозора. Допустимий жовтий відтінок | ДСТУ 5009:2008               |
| Запах            | Має спецефічний запах                                | ДСТУ 5009:2008               |

Фізико-хімічні показники – Таблиця .

Таблиця 28 – Фізико-хімічні показники

| Назва показника  | Норма            | Метод контролювання згідно з |
|--|------------------|------------------------------|
| Показник концентрації водневих іонів, одиниці рН                     | 6.0-7,5          | ГОСТ 29188.2                 |
| Масова частка хлоридів, %, не більше                                 | 55-60            | ГОСТ 26878                   |
| Піноутворювальна здатність: пінне число, не менше ніж стійкість піни | 145,0<br>0,8-1,0 | ГОСТ 22567.1                 |

Токсико-гігієнічні показники – Таблиця 15.

Таблиця 15 – Токсико-гігієнічні показники

| Назва показника   | Норма |
|---|-------|
| Індекс гострої токсичності у разі нанесення на шкіру, не більше   | 0     |
| Індекс шкірно-подразнювальної дії, не більше                      | 0     |
| Індекс подразнювальної дії на слизову оболонку очей, не більше    | 2     |
| Індекс сенсibiliзувальної дії, не більше                          | 0     |
| Індекс гострої токсичності за потрапляння в шлунок, не більше     | 1     |
| Індекс хронічної токсичності у разі нанесення на шкіру, не більше | 0     |

Мікробіологічні показники – Таблиця .

Таблиця 30 – Мікробіологічні показники

| Назва показника   | Од. вимір.          | Норма    |
|---|---------------------|----------|
| Кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів не більше | КУО/см <sup>3</sup> | 1000     |
| Бактерії род. Enterobactereaceae  | см <sup>3</sup>     | Відсутні |
| Staphylococcus aureus   | см <sup>3</sup>     | Відсутні |
| Pseudomonas aeruginosa  | см <sup>3</sup>     | Відсутні |
| Кількість дріжджів та пліснявих грибів, не більше ніж                               | КУО/см <sup>3</sup> | 100      |

## Специфікація ЛЗ - Таблиця .

Таблиця 31 – Специфікація ЛЗ

| Назва показника  | Допустимі межі  | Методи контролю  |
|--|---|--|
| Опис   | Мізь білого-жовтого кольору із слібким специфічним запахом  | За п.1   |
| Ідентифікація<br>Неоміцин сульфат                            | На хроматографі випробовуваного розчину, одержаний в розділі «Кількісне визначення»   | За п. 2.3. ДФУ*, 2.2.28  |
| Бацитрацин цинку   | На хроматографі випробовуваного розчину, одержаний в розділі «Кількісне визначення»   | За п. 2.3. ДФУ*, 2.2.28  |
| Однорідність   | Має бути однорідною   | За п. 3  |
| Маса вмісту туби   | Не менше 20 г   | За п.4   |
| Герметичність туби   | Має витримувати вимоги  | За п. 5, ДФУ*, ст. «М'яка лікарські засоби для зовнішнього застосування», N, Додаток 1 |
| pH   | Від 5,0 до 7,0  | За п.6, ДФУ*, 2.2.3  |
| Мікробіологічна чистота                                      | Критерії прийнятності: загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) 10 <sup>2</sup> КУО/г; загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) 10 <sup>1</sup> КУО/г. Відсутність Staphylococcus aureus в 1 г. Відсутність Pseudomonas aeruginosa в 1 г. | За п. 7, ЄФ*, ДФУ* 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4   |
| Кількісне визначення<br>Бацитрацин цинку<br>Неоміцин сульфат | Від 0,00386 г до 0,00396 г<br>Від 0,00714 до 0,00724 г  | За п. 8<br>За п. 8.1<br>За п. 8.2 ДФУ*, 2.2.28   |

### 12.3 Вимоги до сировини та матеріалів

Для виготовлення мазі використовують таку сировину та допоміжні матеріали:

- бацитрацин субстанція згідно з чинною нормативною документацією або закордонного виробництва за наявності висновку державної санітарно-епідеміологічної експертизи центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я та/або сертифікату відповідності;

Дозволяється застосування аналогічної сировини згідно з іншою чинною документацією, розробленою на заміну вищезазначеної нормативної документації або сировину закордонного виробництва, з показниками не нижче зазначених у вищенаведеній нормативній документації за наявності висновку центрального органу виконавчої влади у сфері охорони здоров'я та/або сертифікату відповідності.

Залишковий термін зберігання сировини та матеріалів, що надходять на виробництво мазі, не повинен бути менше, ніж 2/3 від встановленого.

Кожна партія сировини і матеріалів, які поступають для виробництва мазі, повинна супроводжуватися установленої форми документом щодо якості із зазначенням відповідності чинним нормативним документам.

Ланолін специфікація – Таблиця .

Таблиця 32 – Ланолін специфікація

|             |  |
|-------------|--|
| Опис        | Жовта масляниста речовина з характерним запахом. В розплавленому вигляді являє собою прозору або майже прозору жовту рідину. Розчин субстанції в петролейному ефара має ополесценцію |
| Розчинність | Мало розчинна в киплячому етанолі, практично не розчинна у вода  |

## Закінчення. Таблиця

| Ідентифікація                          | Якісна реакція  |
|--|---|
| Водорозчинні кислоти або лужні домішки | Не більше 0,2 мл 0.02 М розчину хлористоводневої кислоти або не більше 0,15 мл 0.02 М розчину натрію гідроксиду змінює колір індикатора |
| Температура каплепадіння               | Від 38 С до 44 С  |
| Водо-абсорбаційна здатність            | Не менше 20 г води  |
| Кислотне число                         | Не більше 1,0   |
| Число омилення                         | Від 90 до 105   |
| Водорозчинні окислені речовини         | Має витримувати вимоги  |
| Хлориди                                | Не більше 150 ppm   |
| Втрата в масі при висушуванні          | Не більше 0,5%  |
| Сульфатна зола                         | Не більше 0.15%   |
| Парафін                                | Не більше 1,0%  |

## Олія мінеральна специфікація – Таблиця .

Таблиця 33 – Олія мінеральна специфікація

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| Опис                               | Прозора, безбарвна, масляниста рідина, не флуоресцююча в денному світлі   |
| Розчинність                        | Практично не розчинний у воді, малорозчинний у 96% спирті, змішується з вуглеводами   |
| Ідентифікація                      | ІЧ-спектр<br>Має витримувати випробування на в'язкість  |
| Кислотність або лужність           | Має витримувати вимоги  |
| Відносна густина                   | Від 0,827 до 0,890  |
| В'язкість                          | Від 110 мПа·с до 230 мПа·с  |
| Поліциклічні ароматичні вуглеводні | Оптична густина випробовуваного розчину в області довжини хвиль від 260 нм до 420 нм не має перевищувати 1/3 величини оптичної густини розчину порівняння в максимумі за довжини хвилі 275 нм |
| Тверді парафіни                    | Якісна реакція  |

## Парафін специфікація– Таблиця

Таблиця 34 – Парафін специфікація

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| Опис                              | Біла, або майже біла, напівпрозора, м'яка на дотик, жирна та липка маса, в розплавленому стані злегка флуоресціююча в денному світлі  |
| Розчинність                       | Практично не розчинний у воді Р, 96 % спирті Р і гліцерині Р, мало розчинний у метиленхлориді Р   |
| Ідентифікація                     | Має витримувати вимоги тесту<br><br>Інфрачервоний спектр субстанції має відповідати інфрачервоному спектру парафіну білого м'якого EP CRS.<br><br>Має витримувати вимоги тесту «Кольоровість» |
| Кольоровість                      | Субстанція має бути білого кольору  |
| Кислотність або лужність          | Повинен витримувати випробування  |
| Консистенція                      | Від 60 до 300   |
| Поліциклічні ароматичні вуглеводи | Не більше 0,03 % (300 ppm)  |
| Сульфатна зола                    | Не більше 0,05 %  |

### 12.4 Пакування

Мазь фасують в алюмінієві туби, дозуванням 20 г (первинна упаковка) та в катонну коробку (вторинна упаковка).

В якості транспортної тари використовують ящики з гофрованого картону.

Допускається використовувати аналогічну за якісними характеристиками тару, яка забезпечує збереження продукції.

Максимальна маса брутто транспортної тари має становити не більше 7 кг.

Маркування повинно відповідати ДСТУ 5010:2008.

На упаковці споживчої тари обов'язково повинна міститися така інформація:

- назва продукції;
- знак для товарів та послуг (за наявності);

- назва (найменування) та повна адреса і телефон виробника;
- склад мазі;
- об'єм / вага, мл /мг ( $\text{см}^3$  / г), із зазначенням відхилення від номінального об'єму / ваги;
- дата виготовлення і строк придатності або «придатний до»;
- номер партії виробництва;
- умови зберігання;
- штрих-код EAN згідно з ДСТУ 3147;
- позначення цих ТУ.

У разі сертифікації маркування повинно містити знак відповідності згідно з ДСТУ 2296.

На туби з маззю наклеюють етикетки, які повинні бути чистими, без слідів забруднень і підтьоків клею, цілими. Для наклеювання етикеток використовують дисперсію полівінілацетатну або іншого типу, дозволеного центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я. Для виготовлення етикеток використовують папір етикеточний чи папір для писання. Дозволяється нанесення інформації безпосередньо на туби згідно з ДСТУ 5010:2008.

На кожній коробці із маззю повинна обов'язково міститися така інформація:

- назву продукції;
- знак для товарів та послуг (за наявності);
- назва (найменування) та повна адреса і телефон виробника;
- склад мазі;
- об'єм / вага, мл /мг ( $\text{см}^3$  / г), із зазначенням відхилення від номінального об'єму / ваги;
- дата виготовлення і строк придатності або «придатний до»;
- номер партії виробництва;
- умови зберігання;

- штрих-код EAN згідно з ДСТУ 3147;
- позначення цих ТУ.

Рекомендації щодо застосування дозволяється друкувати на листку, що вкладається до коробки. Кількість таких листків-вкладок повинна бути такою ж як і кількість туб у коробці.

На кожен одиницю транспортної тари (ящик) наклеюють етикетку, яка містить таку інформацію:

- назву продукції;
- знак для товарів та послуг;
- назву (найменування) та повна адреса і телефон виробника;
- кількість пакувальних одиниць;
- об'єм одиниці споживчої тари;
- дату виготовлення або дату закінчення терміну придатності та гарантійний термін зберігання;
- номер партії;
- умови зберігання;
- позначення цих ТУ.

Допускається наносити іншу інформацію, яка не суперечить чинному законодавству України.

Транспортне маркування повинно відповідати вимогам НТД з нанесенням маніпуляційних знаків «Крихке», «Обережно» та «Верх».

Маркування мазі виконується державною мовою України. Дозволяється дублювання маркування іншими мовами (за необхідності). При поставках мазі на експорт маркування проводять згідно вимог контракту.

## **12.5 Вимоги безпеки і охорони довкілля, утилізування**

Технологічні процеси і технологічне обладнання для виготовлення мазі повинні відповідати вимогам ДСТУ 2195, ДСТУ 7239, ДСТУ 7234, СП 1042 (ДНАОП 0.03-1.07).

В процесі виробництва мазі повинні виконуватись вимоги безпеки технологічних процесів у відповідності до чинних НТД.

Виробничі приміщення повинні відповідати вимогам чинних НТД, пожежна безпека у відповідності з чинними НТД.

Мікроклімат приміщень повинен відповідати ДСН 3.3.6.042.

Повітря робочої зони повинно відповідати вимогам ДСН 3.3.6.042.

Приміщення, в якому виготовлюється мазь, повинно бути обладнано вентиляцією згідно ДСТУ Б А.3.2-12. Місця можливого викиду шкідливих хімічних речовин повинні бути обладнані місцевими витяжними пристроями згідно чинних НТД.

Контроль за наявністю та складом шкідливих хімічних речовин у повітрі робочої зони повинен проводитись у відповідності до графіку, який затверджено керівником підприємства та погоджено з органом Держнагляду за методиками у відповідності до вимог МУ 3936.

Рівень шуму на робочих місцях повинен відповідати вимогам ДСН 3.3.6.037.

Допустимі рівні вібрації на робочих місцях повинні відповідати вимогам ДСН 3.3.6.039.

Природне та штучне освітлення повинно відповідати ДБН В.2.5-28.

Виробничі і санітарно-побутові приміщення працюючих повинні відповідати вимогам чинних НТД.

Робочі приміщення повинні бути забезпечені водопровідною системою і каналізацією згідно положень чинних НТД, питною водою згідно з ДСанПіН 2.2.4-171.

Контроль за станом електроустановок і їх безпечною експлуатацією здійснюється відповідно до ДСТУ 7237. Металеві частини електроустановок повинні бути заземлені відповідно до вимог чинних НТД.

Працюючі повинні бути забезпечені санітарним одягом, засобами індивідуального захисту органів дихання згідно з чинною нормативною документацією.

Виробничі стічні води після очистки зливають в каналізацію у відповідності з СанПиН 4630.

Відходи матеріалів повинні утилізуватися. Сміття вивозитися в спеціально відведені місця відповідно до ДСанПиН 2.2.7.029. З метою охорони довкілля від забруднення повинен бути організований контроль за дотриманням допустимих викидів шкідливих речовин в атмосферу, встановлених ДСП 201. Захист ґрунту від забруднення побутовими та промисловими відходами виконують згідно з наказом МОЗ України №145 від 17.03.2011 р. Утилізуванню некондиційного продукту та відходів виробництва згідно с ДСТУ 4462.3.01, ДСТУ 4462.3.02.

Всі працюючі повинні проходити попередні і періодичні медичні огляди в терміни, встановлені центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я відповідно до наказу № 280 від 23.07.2002 р.

## **12.6 Правила приймання**

Приймання проводять партіями. За партію приймають продукцію, що виготовлена в однакових виробничих умовах, в одному виробничому циклі, з однієї партії сировини, позначена одним номером, розфасована в однорідну тару, однорідна за показниками і оформлена одним документом про якість, у встановленому на підприємстві-виробнику порядку.

Для перевірки відповідності мазі вимогам цих ТУ встановлюються приймально-здавальні, періодичні та сертифікаційні випробування.

Приймально-здавальні випробування

Приймально-здавальним випробуванням підлягає кожна партія (серія) мазі.

При проведенні приймально-здавальних випробувань у кожній партії (серії) контролюють органолептичні показники, об'єм у флаконі, показник концентрації водневих іонів, масову частку хлоридів, піноутворювальну здатність, якість пакування та відповідність маркування.

## **12.7 Періодичні випробування**

При проведенні періодичних випробувань контролюють мікробіологічні показники безпечності мазі (п. 8.2).

Випробування проводять не рідше одного разу на рік та на вимогу контролюючих організацій і споживачів.

Токсико-гігієнічні показники контролюють при постановці продукції на виробництво та на вимогу контролюючих організацій.

У випадку одержання незадовільних результатів контролю хоча б за одним з показників проводять повторну перевірку мазі за цим показником на подвійній кількості проб, узятих із тієї ж партії. Якщо результати повторного контролю мазі незадовільні, то партію вважають такою, що не відповідає вимогам цих ТУ і бракують.

Якість використаної сировини перевіряють при вхідному контролі згідно з чинних НТД в установленому на підприємстві-виробнику порядку.

Сертифікаційні випробування проводять згідно з вимогами ДСТУ 3413.

Вимоги безпеки і охорони довкілля, які передбачені у п. 8.5, контролюються в процесі підготування і освоєння виробництва в порядку визначеному органами ринкового нагляду згідно з методами, затвердженими центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я.

## **12.8 Методи контролювання**

Мікробіологічний контроль

Випробування проводять згідно вимог ЕФ\*, ДФУ\*, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4.

Критерії прийнятності: загальне число аеробних мікроорганізмів  $10^2$  КУО/г, загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС)  $10^1$  КУО/г. Відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 г. Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Відбір проб проводять згідно з ДСТУ 5009.

Визначення органолептичних показників проводять наступним чином: зовнішній вигляд та колір – візуально (при денному світлі, без використання збільшувальних приладів), запах – органолептично згідно з ДСТУ 5009:2008.

Визначення фізико-хімічних показників проводять згідно з методами, наведеними у п. 8.2.

Об'єм та відхилення від об'єму наповнення контролюють за допомогою мірного циліндру згідно чинних НТД.

Токсико-гігієнічні показники контролюють згідно з методами, затвердженими центральним органом виконавчої влади у сфері охорони здоров'я.

Перевірку на відповідність вимогам пакування та маркування проводять візуально.

Дозволено застосовувати інші методи контролювання, погоджені і затверджені у встановленому порядку. Методики контролювання показників безпеки підлягають атестації у порядку, встановленому центральним органом виконавчої влади у сфері стандартизації і погоджуються з Головним державним санітарним лікарем України.

## **12.9 Транспортування та зберігання**

Мазь транспортують всіма видами транспорту у відповідності до вимог ДСТУ 5010.

Мазь зберігають в оригінальній упаковці в сухому, захищеному від світла та недоступному для дітей місці за температури від  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Строк придатності – 36 місяців з дати виробництва (виготовлення).

## **12.10 Гарантії виробника**

Підприємство-виробник гарантує відповідність мазі вимогам цих ТУ при дотриманні умов транспортування та зберігання, які встановлені цими ТУ.

Гарантійний термін зберігання (строк придатності) згідно з 8.9 АНД.

## ВИСНОВОК

В даній кваліфікаційній роботі висвітлено проблематику сучасної системи охорони здоров'я щодо протоколів лікування інфекційних захворювань, що носить глобальний загальнопланетарний характер, збільшення внутрішньолікарняних захворювань, ріст антибіотикорезистентості.

Обґрунтовано, що для виробництва бацитрацину цинку доцільно використовувати продуцент *Bacillus licheniformis* DW2, який виділяє антибіотик в кількості 13.4 г/л та загальній ціні 0.095 грн/гр, що являється найефективнішими показниками серед всіх оглядових продуцентів.

Відповідно до поставленої мети та задач в поточній роботі розроблено проект виробництва протимікробного засобу для зовнішнього застосування на основі *Bacillus licheniformis* DW2, який дозволив отримати діючий препарат з максимальною продуктивністю та економічною вигодою.

Розроблено технологічну карту на основі препарату «Неоміцин плюс» яка включає етапи виділення антибіотику та виробництва ЛЗ. Обґрунтовано доцільність використання обладнання на основі аналітичних даних. Вихід продукту на реалізацію становить 906660 туб за рік, що повністю покриває розрахунковий попит на препарат. Вибрано форму випуску препарату в виді мазі на основі ланоліну, парафіну та мінеральній олії, в алюмінієвих тубах по 20г.

Розроблено розрахунки матеріальних потоків та матеріального балансу на серію ЛЗ, які відповідають поставленій задачі вихід бацитрацину цинку становить 5.52 кг на серію (виділення), та практичний вихід запакованого препарату який йде на реалізацію 25200-26700 туб на рік.

|                  |             |                    |               |             |                                 |                    |             |                |
|------------------|-------------|--------------------|---------------|-------------|---------------------------------|--------------------|-------------|----------------|
|                  |             |                    |               |             | <b>НУХТ БТЕК 02.02.10 КР ПЗ</b> |                    |             |                |
| <i>Змн.</i>      | <i>Арк.</i> | <i>№ документа</i> | <i>Підпис</i> | <i>Дата</i> |                                 |                    |             |                |
| <i>Розроб</i>    |             | <i>Волошин</i>     |               |             | <b>ВИСНОВОК</b>                 | <i>Літ.</i>        | <i>Арк.</i> | <i>Акрюшів</i> |
| <i>Перевір.</i>  |             | <i>Воронцов</i>    |               |             |                                 |                    | 132         | 1              |
| <i>Консульта</i> |             |                    |               |             |                                 | 134                |             |                |
| <i>Н. Контр.</i> |             |                    |               |             |                                 | <b>Кафедра БТМ</b> |             |                |
| <i>Затверд.</i>  |             | <i>Стабніков</i>   |               |             |                                 |                    |             |                |

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- [1] Antimicrobial resistance. (2021). *WHO*. [cutt.ly/n116mEz](https://cutt.ly/n116mEz).
- [2] An estimated 1.2 million people died in 2019 from antibiotic-resistant bacterial infections. (2022). *University of Oxford*. [cutt.ly/B114sIC](https://cutt.ly/B114sIC).
- [3] Deaths From Drug-Resistant Infections Set To Skyrocket. (2022). *Statista*. [cutt.ly/m1169hX](https://cutt.ly/m1169hX).
- [4] Antibiotics Market Size, Share & Trends Analysis Report By Drug Class (Cephalosporin, Penicillin, Fluoroquinolone, Macrolide, Carbapenem, Aminoglycoside, Sulfonamide, 7-ACA), By Action Mechanism, And Segment Forecasts, 2021 – 2028. (2022). *Grand View Research*. [cutt.ly/51zwPsK](https://cutt.ly/51zwPsK).
- [5] Antibiotic Resistance Market Size, Share & Trends Analysis Report By Disease (BSI, CDI, cUTI, cIAI), By Pathogen (E. coli, P. Aeruginosa, K. Pneumoniae), By Drug Class, and Segment Forecasts, 2018 – 2025. (2022). *Grand View Research*. [cutt.ly/A1zwsmS](https://cutt.ly/A1zwsmS).
- [6] Antibiotic resistance – far more than a medical problem. (2022). *ReAct*. [cutt.ly/q1zrs18](https://cutt.ly/q1zrs18).
- [7] Antibiotic Resistance Research & Statistics | Visualized Health. (2022). *Clearvue Health*. [cutt.ly/S1zytKN](https://cutt.ly/S1zytKN).
- [8] A Scientific Roadmap for Antibiotic Discovery. (2022). *The Pew Charitable Trusts*. [cutt.ly/21zyBLO](https://cutt.ly/21zyBLO).
- [9] Hutchings, M. I., Truman, A. W., Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72-80. [doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008](https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008).
- [10] Kumar, M. [et al.]. (2021). Futuristic Non-antibiotic Therapies to Combat Antibiotic Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*. [doi.org/10.3389/fmicb.2021.609459](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.609459).

[11] Wu, Z. [et al.]. (2022). Transcriptome Analysis of *Bacillus licheniformis* for Improving Bacitracin Production. *ACS Synthetic Biology*, 11(3), 1325-1335. doi.org/10.1021/acssynbio.1c00593.

[12] Hu, S. [et al.]. (2022). Transcription factor DegU-mediated multi-pathway regulation on lichenysin biosynthesis in *Bacillus licheniformis*. *Metabolic Engineering*, 74, 108-120. doi.org/10.1016/j.ymben.2022.10.003.

[13] Tolibia, S. E. M. [et al.]. (2023). Engineering of global transcription factors in *Bacillus*, a genetic tool for increasing product yields: a bioprocess overview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1), 1-21. doi.org/10.1007/s11274-022-03460-9.

[14] Zhu, J. [et al.]. (2021). Metabolic Engineering of Aspartic Acid Supply Modules for Enhanced Production of Bacitracin in *Bacillus licheniformis*. *ACS Synthetic Biology*, 10(9), 2243-2251. doi.org/10.1021/acssynbio.1c00154.

[15] Muras, A. [et al.]. (2021). Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(4), 609-627. doi.org/10.1080/07388551.2021.1873239.

[16] Graham, C. J. (2017). The global threat of antibiotic resistance: what can be done?. *Journal of Global Health Reports*, 1, e2017002. doi.org/10.29392/joghr.1.e2017002.

[17] Hou, J. [et al.]. (2023). Global trend of antimicrobial resistance in common bacterial pathogens in response to antibiotic consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130042. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130042.

[18] Qin, X., Wang, X., Shen, Z. (2023). The rise of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Current Opinion in Gastroenterology*, 39(1), 9-15. doi.org/10.1097/MOG.0000000000000901.

[19] Brooks, K. [et al.]. (2023). Analysis of antibiotic resistance from a rural community and wastewater contaminated environment linked to human

and animal activities. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100232. doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100232.

[20] An, R. [et al.]. (2023). Xenogenetic Evolutionary of Integrons Promotes the Environmental Pollution of Antibiotic Resistance Genes—Challenges, Progress and Prospects. *Water Research*, 119629. doi.org/10.1016/j.watres.2023.119629.

[21] Tarek, M. H., Garner, E. (2023). A proposed framework for the identification of indicator genes for monitoring antibiotic resistance in wastewater: Insights from metagenomic sequencing. *Science of The Total Environment*, 854, 158698. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158698.

[22] Guo, Z. F. [et al.]. (2023). Data-driven discoveries on widespread contamination of freshwater reservoirs by dominant antibiotic resistance genes. *Water Research*, 229, 119466. doi.org/10.1016/j.watres.2022.119466.

[23] Liu, C. [et al.]. (2023). Biogeography and diversity patterns of antibiotic resistome in the sediments of global lakes. *Journal of Environmental Sciences*, 127, 421-430. doi.org/10.1016/j.jes.2022.06.024.

[24] Chauhan, N. S., Punia, A. (2023). Antibiotic pollution and antibiotic-resistant bacteria in water bodies. In *Degradation of Antibiotics and Antibiotic-Resistant Bacteria from Various Sources*. Academic Press, 179-201. doi.org/10.1016/B978-0-323-99866-6.00014-3.

[25] Bai, J. [et al.]. (2023). Antibiotic resistance and virulence characteristics of four carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains coharbouring blaKPC and blaNDM based on whole genome sequences from a tertiary general teaching hospital in central China between 2019 and 2021. *Microbial Pathogenesis*, 105969. doi.org/10.1016/j.micpath.2023.105969.

[26] Viprey, V. F. [et al.]. (2023). European survey on the current surveillance practices, management guidelines, treatment pathways and heterogeneity of testing of *Clostridioides difficile*, 2018–2019: results from The Combatting Bacterial Resistance in Europe CDI (COMBACTE-

CDI). *Journal of Hospital Infection*, 131, 213-220. doi.org/10.1016/j.jhin.2022.11.011.

[27] Perikleous, E. P. [et al.]. (2023). Antibiotic Resistance in Patients with Cystic Fibrosis: Past, Present, and Future. *Antibiotics*, 12(2), 217. doi.org/10.3390/antibiotics12020217.

[28] Pandey, S., Pandey, A. R. (2023). Strategy to Combat Antibiotic Resistance Bacteria and Genes in Wastewater in Developing Countries. *Drug Discovery Today*, 28 (4), 103491. doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103491.

[29] Leff, L. G., Fasina, K., Engohang-Ndong, J. (2023). Detecting antibiotic resistance genes in anthropogenically impacted streams and rivers. *Current Opinion in Biotechnology*, 79, 102878. doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102878.

[30] Ahmed, S. [et al.]. (2023). Recent Approaches for Downplaying Antibiotic Resistance: Molecular Mechanisms. *BioMed Research International*, 2023. doi.org/10.1155/2023/5250040.

[31] Paranjpe, M. N. [et al.]. (2023). Insights into the molecular mechanism of translation inhibition by the ribosome-targeting antibiotic thermorubin. *Nucleic Acids Research*, 51(1), 449-462. doi.org/10.1093/nar/gkac1189.

[32] Nadworny, P. L. [et al.]. (2023). Treatment of infection and inflammation associated with COVID-19, multi-drug resistant pneumonia and fungal sinusitis by nebulizing a nanosilver solution. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 102654. doi.org/10.1016/j.nano.2023.102654.

[33] Brar, B. [et al.]. (2023). Nanotechnology: a contemporary therapeutic approach in combating infections from multidrug-resistant bacteria. *Archives of Microbiology*, 205(2), 62. doi.org/10.1007/s00203-023-03404-3.

[34] Talat, A., Khan, A. U. (2023). Artificial intelligence as a smart approach to develop antimicrobial drug molecules: a paradigm to combat drug-resistant infections. *Drug Discovery Today*, 103491. doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103491.

[35] Kolben, Y. [et al.]. (2023). Using chronobiology-based second-generation artificial intelligence digital system for overcoming antimicrobial drug resistance in chronic infections. *Annals of Medicine*, 55(1), 311-318. doi.org/10.1080/07853890.2022.2163053.

[36] Ye, J., Chen, X. (2023). Current Promising Strategies against Antibiotic-Resistant Bacterial Infections. *Antibiotics*, 12(1), 67. doi.org/10.3390/antibiotics12010067.

[37] Li, J. [et al.]. (2023). Antimicrobial micro/nanorobotic materials design: From passive combat to active therapy. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 152, 100712. doi.org/10.1016/j.mser.2022.100712.

[38] Wang, F. [et al.]. (2023). Insight into Drug Resistance in Status Epilepticus: Evidence from Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2039. doi.org/10.3390/ijms24032039.

[39] Tavares-Carreón, F. [et al.]. (2023). *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. *PeerJ*, 11, e14399. peerj.com/articles/14399.

[40] Nikolic, P., Mudgil, P. (2023). The Cell Wall, Cell Membrane and Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* and Their Role in Antibiotic Resistance. *Microorganisms*, 11(2), 259. doi.org/10.3390/microorganisms11020259.

[41] Chen, X. [et al.]. (2023). Newly Discovered Mechanisms of Antibiotic Self-Resistance with Multiple Enzymes Acting at Different Locations and Stages. *Antibiotics*, 12(1), 35. doi.org/10.3390/antibiotics12010035.

[42] Aslanli, A. [et al.]. (2022). “Universal” antimicrobial combination of bacitracin and His6-OPH with lactonase activity, acting against various

bacterial and yeast cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9400. doi.org/10.3390/ijms23169400.

[43] George, N. L., Schillmiller, A. L., Orlando, B. J. (2022). Conformational snapshots of the bacitracin sensing and resistance transporter BceAB. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(14), e2123268119. doi.org/10.1073/pnas.2123268119.

[44] Wang, J. [et al.]. (2022). Bacitracin-Controlled BiOI/Bi5O7I Nanosheet Assembly and S-Scheme Heterojunction Formation for Enhanced Photocatalytic Performances. *ACS Applied Nano Materials*, 5(5), 6736-6749. doi.org/10.1021/acsanm.2c00760.

[45] Yang, Y. [et al.]. (2022). Characterization of a Novel Linezolid Resistance Gene *optrA* and Bacitracin Resistance Locus-Carrying Multiple Antibiotic Resistant Integrative and Conjugative Element ICE Ssu 1112S in *Streptococcus Suis*. *Microbiology Spectrum*, 10(1), e01963-21. doi.org/10.1128/spectrum.01963-21.

[46] Li, J. [et al.]. (2022). Dietary Bacitracin Methylene Disalicylate Improves Growth Performance by Mediating the Gut Microbiota in Broilers. *Antibiotics*, 11(6), 818. doi.org/10.3390/antibiotics11060818.

[47] Adkins, J. M. [et al.]. (2022). Comparison of antimicrobial activity between bacitracin-soaked sutures and triclosan coated suture. *Journal of Surgical Research*, 270, 203-207. doi.org/10.1016/j.jss.2021.09.010.

[48] Ikpa, S. C. [et al.]. (2023). Effects of varied culture conditions on crude bacitracin produced by *Bacillus subtilis* isolated from the soil. *Magna Scientia Advanced Biology and Pharmacy*, 2023, 08(01), 001-008. doi.org/10.30574/msabp.2023.8.1.0095.

[49] Li, L. [et al.]. (2021). Metabolic engineering of L-cysteine supply modules for enhanced production of bacitracin in *Bacillus licheniformis*. *Sheng wu Gong Cheng xue bao= Chinese Journal of Biotechnology*, 37(8), 2803-2812. doi.org/10.13345/j.cjb.200623.

[50] Rao, Y. [et al.]. (2021). Construction and characterization of a gradient strength promoter library for fine-tuned gene expression in *Bacillus licheniformis*. *ACS Synthetic Biology*, 10(9), 2331-2339. doi.org/10.1021/acssynbio.1c00242.

[51] Méndez, L. R. [et al.]. (2020). Bestatin and bacitracin inhibit porcine kidney cortex dipeptidyl peptidase IV activity and reduce human melanoma MeWo cell viability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2944-2952. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.157.

[52] Lemnaru, G. M. [et al.]. (2020). Antibacterial activity of bacterial cellulose loaded with bacitracin and amoxicillin: In vitro studies. *Molecules*, 25(18), 4069. doi.org/10.3390/molecules25184069.

[53] Schnell, L. [et al.]. (2019). Revisiting an old antibiotic: bacitracin neutralizes binary bacterial toxins and protects cells from intoxication. *The FASEB Journal*, 33(4), 5755-5771. doi.org/10.1096/fj.201802453R.

[54] Buijs, N. [et al.]. (2022). Synthetic Studies with Bacitracin A and Preparation of Analogues Containing Alternative Zinc Binding Groups. *Chembiochem*, 23(24):e202200547. doi.org/10.1002/cbic.202200547.

[55] BACITRACIN (bacitracin USP). *Pfizer Canada* (2023). pfizer.ca/en/our-products/bacitracin-bacitracin-usp.

[56] Baneocin Sandoz. *НТД МОЗ України* (2023). mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=28672.

[57] Неоміцин плюс. *Фармацевтична компанія Здоров'я* (2023). cutt.ly/s9U4vF9.

[58] Neosporin. *GlaxoSmithKline GSK* (2023). cutt.ly/C9U4mn6.

[59] Patiënten informatie Bacicoline-B. *Daleco Pharma B.V.* (2023). dalecopharma.nl/patienten-informatie.

[60] Polysporin Bacitracin Ointment. *Johnson & Johnson Consumer* (2023). cutt.ly/O9U4WvM.

[61] Mandal, P. [et al.]. (2022). An Audit on Design of Pharmaceutical Packaging. *Journal of Packaging Technology and Research*, 6(3), 167-185. doi.org/10.1007/s41783-022-00141-8.

[62] Ramos, T. [et al.]. (2023). Reducing plastic in the operating theatre: Towards a more circular economy for medical products and packaging. *Journal of Cleaner Production*, 383, 135379. doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135379.

[63] Bassani, F. [et al.]. (2022). Ecodesign approach for pharmaceutical packaging based on Life Cycle Assessment. *Science of The Total Environment*, 816, 151565. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151565.

[64] Salmenperä, H. [et al.]. (2022). Increasing the circularity of packaging along pharmaceuticals value chain. *Sustainability*, 14(8), 4715. doi.org/10.3390/su14084715.

[65] ДСТУ ISO 15378:2019 Матеріали первинні пакувальні на лікарські засоби. Окремі вимоги щодо застосування ISO 9001:2015 з урахуванням належної виробничої практики (GMP) (ISO 15378:2017, IDT). ДП УкрНДНЦ (2023). online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\_doc=88048.

[66] Wang, Q. [et al.]. (2017). Optimization of Inexpensive Agricultural By-Products as Raw Materials for Bacitracin Production in *Bacillus licheniformis* DW2. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(4): 1146–1157. doi.org/10.1007/s12010-017-2489-1.

[67] Zhu, J. [et al.]. (2018). Enhancement of precursor amino acid supplies for improving bacitracin production by activation of branched chain amino acid transporter BrnQ and deletion of its regulator gene lrp in *Bacillus licheniformis*. *Synthetic and systems biotechnology*, 3(4): 236-243. doi.org/10.1016/j.synbio.2018.10.009.

[68] Cai, D. [et al.]. (2020). Enhanced bacitracin production by systematically engineering S-adenosylmethionine supply modules in

*Bacillus licheniformis*. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 305. doi.org/10.3389/fbioe.2020.00305.

[69] Zhang, Q. [et al.]. (2020). Enhanced production of bacitracin via energy metabolism engineering in *Bacillus licheniformis* DW2. *Chinese Journal of Biotechnology*, 36 (6), 1126-1137. doi.org/10.13345/j.cjb.190464.

[70] Zhu, S. [et al.]. (2019). Enhancement of bacitracin production by NADPH generation via overexpressing glucose-6-phosphate dehydrogenase Zwf in *Bacillus licheniformis*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 187 (4): 1502-1514. doi.org/10.1007/s12010-018-2894-0.

[71] Wu, F. [et al.]. (2019). Modular metabolic engineering of lysine supply for enhanced production of bacitracin in *Bacillus licheniformis*. *Applied microbiology and biotechnology*, 103 (21): 8799-8812. doi.org/10.1007/s00253-019-10110-y.

[72] Ali, S. [et al.]. (2018). Biosynthesis and optimization of bacitracin by mutant *Bacillus licheniformis* using submerged fermentation. *Indian journal of biotechnology*, 17: 251-260. cutt.ly/y9IoAW5.

[73] Bacterial skin diseases. *IHME* (2023). cutt.ly/G9IKPvt.

[74] Населення та міграція. *Державна служба статистики України* (2023). ukrstat.gov.ua/druk/publicat/kat\_u/publnasel\_u.htm.

[75] Індекс здоров'я. *Україна* (2023). health-index.com.ua.

[76] Здоров'я та смертність. *Державна служба статистики України* (2023). ukrstat.gov.ua/gend\_rivnist/metadata\_gr/06/06.htm.

[77] Демографічна та соціальна статистика / Охорона здоров'я. *Державна служба статистики України* (2023). ukrstat.gov.ua/operativ/menu/menu\_u/oz.htm.

[78] Batchelor, H. (Ed.). (2021). *Biopharmaceutics: From Fundamentals to Industrial Practice*. John Wiley & Sons. doi.org/10.1002/9781119678366.

- [79] Behme, S. (2021). *Manufacturing of pharmaceutical proteins: from technology to economy*. John Wiley & Sons. doi.org/10.1002/9783527833818.
- [80] Barrett, J. S. (2022). *Fundamentals of Drug Development*. John Wiley & Sons. doi.org/10.1002/9781119913276.
- [81] Benson, H. A. [et al.]. (2022). *Fundamentals of Drug Delivery*. John Wiley & Sons. doi.org/10.1002/9781119769644.
- [82] Gilleskie, G., Rutter, C., McCuen, B. (2021). *Biopharmaceutical Manufacturing. In Biopharmaceutical Manufacturing*. De Gruyter. doi.org/10.1515/9783110616880.
- [83] Pessoa, A., Vitolo, M., Long, P. F. (Eds.). (2021). *Pharmaceutical Biotechnology: a focus on industrial application*. CRC Press. cutt.ly/49IFCYE.
- [84] Xiao, K. (2020). *Analytical scientists in pharmaceutical product development: task management and practical knowledge*. John Wiley & Sons. doi.org/10.1002/9781119547785.
- [85] Ita, K. (2020). *Transdermal Drug Delivery: Concepts and Application*. Academic Press. doi.org/10.1016/C2019-0-04840-6.
- [86] Silva, A.C. [et al.]. (2020). *Current Applications of Pharmaceutical Biotechnology*. Springer. doi.org/10.1007/978-3-030-40464-2.
- [87] Краснопольський, Ю. М., Пилипенко, Д. М. (2020). *Фармацевтична біотехнологія. Біотехнології виробництва готових лікарських форм*. Харків : Мадрид. cutt.ly/K9IG6uN.
- [88] Поліщук, Ю. В. (2022). *Технологія продуктів мікробного синтезу*. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського. cutt.ly/S9IHgCo.
- [89] Пирог, Т. П., Пенчук, Ю. М. (2019). *Біохімічні основи мікробного синтезу*. Київ : Ліра-К. cutt.ly/G9IHMFx.
- [90] *Центрифуги*. АТ «СМНВО – Інжиніринг» (2023). frunze.com.ua/ru/produkcija/centrifugi.

[91] *RDC*. Koch Modular Process Systems, LLC. (2023). [kochmodular.com/liquid-liquid-extraction/extraction-column-types/#tab-2-nav](http://kochmodular.com/liquid-liquid-extraction/extraction-column-types/#tab-2-nav).

[92] *Биореактор*. Himiks (2023). [khimmix.ua/himicheskie-reaktory/bioreactor%2075%20liters](http://khimmix.ua/himicheskie-reaktory/bioreactor%2075%20liters).

[93] *Фільтри сталіні емальовані під тиском (ДРУК-фільтри)*. ТОВ «ГК ЕВРОХИММАШ К.О.» (2023). [euromash.kiev.ua/ua/druk\\_filtr\\_ua.php](http://euromash.kiev.ua/ua/druk_filtr_ua.php).

[94] *UF1060*. Memmert GmbH + Co. KG (2023). [memmert.com/products/heating-drying-ovens/cleanroom-drying-oven-1/UF1060-1](http://memmert.com/products/heating-drying-ovens/cleanroom-drying-oven-1/UF1060-1).

[95] *СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 Лікарські засоби. Незалежна виробнича практика*. Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками (2023). [cutt.ly/X3cjHqP](http://cutt.ly/X3cjHqP).

[96] *ДСТУ ISO 14644-1:2009 Чисті приміщення та пов'язані з ними контрольовані середовища. Частина 1. Класифікація чистоти повітря (ISO 14644-1:1999, IDT)*. ДП «УкрНДНЦ» (2023). [online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\\_doc=26060](http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=26060).

[97] *Axomix 600*. GVP Equipment Solutions (2023). [gvp.com.ua/ustroystvo-gomogenizator-dlya-400-1000-litrov](http://gvp.com.ua/ustroystvo-gomogenizator-dlya-400-1000-litrov).

[98] *NDP1000-03 NEMO® NDP*. NETZSCH Pumps & Systems (2023). [cutt.ly/33cCmH6](http://cutt.ly/33cCmH6).

[99] *Axomatic Axo 800*. GVP Equipment Solutions (2023). [gvp.com.ua/tubonapolnitelnaya-mashina-axomatic-aho-800](http://gvp.com.ua/tubonapolnitelnaya-mashina-axomatic-aho-800).

[100] *Axomatic Axo 106*. GVP Equipment Solutions (2023). [gvp.com.ua/gorizontalnaya-kartonazhnaya-mashina-axomatic-axo-106](http://gvp.com.ua/gorizontalnaya-kartonazhnaya-mashina-axomatic-axo-106).

[101] *Box 20KT Nomatech*. GVP Equipment Solutions (2023). [gvp.com.ua/avtomat-dlya-gruppovoy-upakovki-v-kartonnuyu-taru-box-20kt-nomatech](http://gvp.com.ua/avtomat-dlya-gruppovoy-upakovki-v-kartonnuyu-taru-box-20kt-nomatech).

[102] *Пакувальний апарат Hawo hpl 500 D| D-V*

<http://archi-med.com.ua/hpl-500-d-d-v-roller-packaging-machines-hawo/>

[103] *Бочка Мюллера*

<https://labmedproduct.ru/bochka/>

[104] *Просіювальна машина Ranger separator*

<https://vibrascreener.com/ranger-separator/>

[105] *Кульковий млин РМ 100 Ball mill MBL-NK-80*

<https://www.directindustry.com/prod/vilitek-llc/product-210533-2271602.html>