

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

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

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« ___ » лютого 2023 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ

(підпис)

(ім'я та прізвище)

« ___ » лютого 2023 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: Біотехнологія антибіотиків антрациклінового ряду

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 2

ДЯЧИНА Юлія Миколаївна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник СТАБНІКОВ Віктор Петрович

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

Рецензент Ярослав СМІТЮХ

(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 – 2023 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 01 ” листопада 2022 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Дячини Юлії Миколаївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біотехнологія антибіотиків антрациклінового ряду

керівник роботи Стабніков Віктор Петрович, д. т. н., проф.,
(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 31.01.2023

3. Вихідні дані до роботи біосинтез ногаломіцину *Streptomyces nogalater*

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) РОЗДІЛ 1. Антибіотики антрациклінового ряду; РОЗДІЛ 2. Аналоги антрациклінів та речовини, які можуть використовуватись в хіміотерапії замість них; РОЗДІЛ 3. Техніко економічне обґрунтування виробництва ногаломіцину; РОЗДІЛ 4. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях; РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання; РОЗДІЛ 6. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ногаломіцину; РОЗДІЛ 7 Контроль виробництва субстанції для ногаломіцину; РОЗДІЛ 8. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ногаломіцину; РОЗДІЛ 9. Специфікація обладнання одержанні лікарського засобу; РОЗДІЛ 10. Опис технологічної схеми одержання ін'єкційного препарату ногаломіцину; РОЗДІЛ 11. Опис лікарського засобу згідно АНД.

5. Перелік графічного матеріалу

Технологічна схема виробництва – 2 аркуші формату А1; апаратурна схема виробництва – 2 аркуші формату А1.

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	<i>Антибіотики антрациклінового ряду</i>	<i>1.11.22–10.11.22</i>	
2	<i>Аналоги антрациклінів та речовини, які можуть використовуватись в хіміотерапії замість них</i>	<i>11.11.22–21.11.22</i>	
3	<i>Техніко–економічне обґрунтування виробництва ногаломіцину</i>	<i>22.11.22–01.12.22</i>	
4	<i>Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях</i>	<i>02.12.22–10.12.22</i>	
5	<i>Специфікація обладнання</i>	<i>11.12.22–20.12.22</i>	
6	<i>Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення I очищення субстанції для одержання ногаломіцину</i>	<i>21.12.22–27.12.22</i>	
7	<i>Контроль виробництва субстанції для ногаломіцину</i>	<i>28.12.22–03.01.23</i>	
8	<i>Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ногаломіцину</i>	<i>04.01.23–09.01.23</i>	
9	<i>Специфікація обладнання одержання лікарського засобу</i>	<i>10.01.23–16.01.23</i>	
10	<i>Опис технологічної схеми одержання ін'єкційного препарату ногаломіцину</i>	<i>17.01.23–22.01.23</i>	
11	<i>Опис лікарського засобу згідно анд</i>	<i>23.01.23–27.01.23</i>	
12	<i>Оформлення пояснювальної записки</i>	<i>28.01.23–31.01.23</i>	
13	<i>Виконання графічної частини роботи</i>	<i>10.01.23–31.01.23</i>	

Здобувач

_____ (підпис)

Юлія ДЯЧИНА

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Віктор СТАБНІКОВ

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота присвячена розробці виробництва протипухлинного препарату, а саме антибіотику антрациклінового ряду – ногаломіцину. В даній роботі пропонується використання цього лікарського засобу для лікування раку молочної залози. Це пов'язано зі статистикою стосовно цього захворювання, яка щороку неминуче збільшується. Даний тип раку притаманний жінкам у віці, але також трапляється в молодих дівчат, та іноді в чоловіків. Також, варто зауважити, що ногаломіцин ще не використовують в лікарській практиці, а тому в роботі представлено лише можливе його застосування в зазначеній області.

Необхідність цього препарату полягає в тому, що нині розроблено доволі вартісні комбінаційні методи виліковування від раку молочної залози. Нажаль, це не співставно із середнім доходом звичайної українки. Окрім того, на ринку цього препарату відсутні українські виробники. Отже, ніша є доволі економічно вигідною, а тому є потреба у власному виробництві цього антрацикліну.

Робота складається зі вступу та 11 розділів. Обсяг сторінок даної праці – 117 сторінок друкованого тексту. Також, включено список використаної літератури з 132 найменувань. Робота містить 21 таблицю та 7 рисунків. Окрім того, в дипломній представлено графічну частину (технологічна та апаратурна схеми) з 4 аркушів формату А1.

Ключові слова: антрацикліни, рак молочної залози, ногаломіцин, актиноміцети, антибіотики.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ.....	3
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. АНТИБІОТИКИ АНТРАЦИКЛІНОВОГО РЯДУ.....	8
1.1. Загальна характеристика антибіотиків.....	8
1.2. Продуценти антибіотиків антрациклінового ряду.....	11
1.3. Антимікробна властивість антрациклінів.....	18
1.4. Механізм дії антрациклінових антибіотиків.....	19
1.5. Інгібітори протипухлинних антибіотиків.....	20
РОЗДІЛ 2. АНАЛОГИ АНТРАЦИКЛІНІВ ТА РЕЧОВИНИ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИКОРИСТОВУВАТИСЬ В ХІМІОТЕРАПІЇ ЗАМІСТЬ НИХ.....	24
2.1. Біологічні агенти, які можуть синтезувати аналоги та інші речовини для хіміотерапії	24
2.2. Порівняльна характеристика антибіотиків та їх аналогів.....	28
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА НОГАЛОМІЦИНУ.....	33
3.1. Аналіз фармакологічних властивостей ногаломіцину, галузей використання, потреби у антрацикліні.....	33
3.2. Обґрунтування вибору форми випуску ногаломіцину.....	37
3.2.1. Обґрунтування форми випуску ногаломіцину.....	37
3.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ногаломіцину.....	43
3.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання ногаломіцину.....	47
3.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ногаломіцину та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції.....	50
РОЗДІЛ 4. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ.....	54
РОЗДІЛ 5. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	57

РОЗДІЛ 6. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НОГАЛОМІЦИНУ.....	60
РОЗДІЛ 7. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ НОГАЛОМІЦИНУ.....	63
РОЗДІЛ 8. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ НОГАЛОМІЦИНУ.....	75
8.1. Розрахунок річної потужності виробництва ногаломіцину та кількості серій на рік	75
8.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень, підготовки персоналу, дезинфікуючих засобів, вентиляційного повітря.....	75
8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки.....	77
8.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....	79
8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання.....	80
РОЗДІЛ 9. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОДЕРЖАННІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ.....	83
РОЗДІЛ 10. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ІН'ЄКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ НОГАЛОМІЦИНУ.....	86
РОЗДІЛ 11. ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД.....	93
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	100
ДОДАТОК	

ВСТУП

Результати боротьби з раком продовжують щороку поліпшуватись завдяки більш ранньому виявленню та новітнім методам лікування. При цьому хіміотерапія антрациклінами відіграє головну роль у сучасній ері протипухлинної дії. Випадкове відкриття доксорубіцину з *Streptomyces peucetius* та його попередника даунорубіцину стало віхою в техніці промислового виробництва антибіотиків [1].

Антрацикліни внесені до типового списку основних лікарських засобів Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ). На сьогоднішній день рак вражає більше ніж кожну третю людину протягом життя, і разом із серцево-судинними захворюваннями вони є двома провідними причинами смерті в розвинених країнах. Загальна виживаність від раку становить близько 50% серед двадцяти найпоширеніших злоякісних пухлин і приблизно 80% від раку молочної залози, лімфоми, меланоми та раку матки. Така тенденція відображає високе підвищення рівня виживаності в розвинених країнах. Наприклад, у Великобританії тенденції виживаності серед дорослих подвоїлися за останні 40 років і втричі у дітей з 1960-х років [1].

При порівнянні лікування раку без антибіотиків антрациклінового ряду й з ними зазначається важливість використання останнього. У більшості випадків протипухлинні антибіотики мають набагато кращий результат лікування з онкологічними захворюваннями, ніж без них. Це безперечно є підставою для їх подальшого вивчення та розробки, оскільки такі препарати дозволяють ефективно вести боротьбу з різними злоякісними пухлинами [2].

Окремо розглядається проблема поширення онкозахворювань в людей літнього віку, адже така вікова група знаходиться у зоні ризику від інших захворювань (наприклад серцевих), які можуть впливати на ефективність лікування пухлин. Сучасний аналіз показує, що лікування онкохворих літніх

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>ВСТУП</i>	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архивів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Дячина Ю.М.</i>						
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					6	100
<i>Реценз.</i>						8		
<i>Н. Контр.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

людей до 80 років антибіотиками антрациклінового ряду немає негативного впливу на здоров'я, або має, але дуже рідко та незначний. В такому віці бодай не часто можна застосовувати терапію без сильнодіючих препаратів, тому така безпечність протипухлинних антибіотиків є доволі важливим аспектом [3].

Вивчається можливу комбінаторну онкотерапію, шляхом поєднання антибіотиків антрациклінового ряду з іншими протипухлинними речовинами. Наприклад, поєднання антибіотиків з таксанами при лікуванні раку молочної залози за дослідженнями вважається більш ефективним лікуванням, ніж це робити окремо. Але слід зазначити, що ці дослідження все ще знаходяться у стані розробки, а тому й викликають інтерес [4].

Тому, спираючись на вищенаведені факти, актуальністю теми є виробництво ефективного лікарського засобу, який матиме протипухлинні властивості та зможе забезпечити належне лікування онкозахворювань та буде економічно вигідним для українців.

Новизною теми є розробка протипухлинного препарату проти раку молочної залози на основі нового антибіотику антрациклінового ряду як активного фармацевтичного інгредієнту, який ще не введено в лікарську практику. Діючою речовиною виступатиме ногаломіцин, який синтезується у концентрації 120 мг/л за допомогою штаму *Streptomyces nogalater* NRRL 3035 [5].

РОЗДІЛ 1

АНТИБІОТИКИ АНТРАЦИКЛІНОВОГО РЯДУ

1.1. Загальна характеристика антибіотиків

Антрацикліни — група сполук, відкрита понад 50 років тому, які виявляють цитостатичну активність і широко використовуються в протипухлинній терапії. Першим виділеним антрацикліном був даунорубіцин (також званий дауноміцин), отриманий із бактеріального штаму *Streptomyces peucetius*. Іншим антрацикліном, який також широко використовується в онкології, є доксорубіцин (Adriamycin®) [6].

Антрацикліни мають тетрациклінові кільцеві структури з даунозаміною групою, приєднаною глікозидним зв'язком. Вони є багатofункціональними похідними антрахінону і складаються з аглікону (4 кільця, з'єднаних один з одним) та цукрової частини [6,7].

Антрациклінові антибіотики застосовуються в хіміотерапевтичному лікуванні раку, такого як лімфобластний лейкоз. Причина їхньої активності проти раку невідома, але, швидше за все, є результатом інтеркаляції ДНК антрациклінового антибіотика [7].

Єдина структурна відмінність між доксорубіцином і даунорубіцином полягає в тому, що бічний ланцюг доксорубіцину закінчується первинним спиртом, тоді як дауноміцин закінчується метильною групою [6]. Хімічні структури зазначених антибіотиків представлені на рис. 1.1.

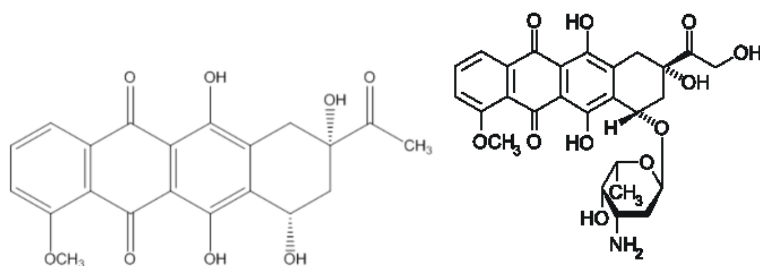


Рис. 1.1. Хімічні структурні формули доксорубіцину та дауноміцину [6]

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.	Дячина Ю.М.				РОЗДІЛ 1 АНТИБІОТИКИ АНТРАЦИКЛІНОВОГО РЯДУ		
Перевір.	Стабніков В.П.						
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.	Стабніков В.П.						
					Літ.	Арк.	Аркушів
						8	100
					Кафедра БТМ		

Ця невелика структурна відмінність має значний вплив на активність і цитотоксичність цих антрациклінів. Протипухлинна активність дауноміцину призвела до інтенсивного пошуку аналогів/похідних сполук, які викликають порівнянний терапевтичний ефект, але меншу кардіотоксичність і вазотоксичність [6].

Лікування антрациклінами ускладнюється його кардіотоксичністю, яка в деяких випадках може призвести до симптоматичної серцевої недостатності і навіть смерті, спричиненої серцевими захворюваннями. Ці ускладнення можуть виникати як під час активної протипухлинної терапії (так званої ранньої кардіотоксичності), протягом року після закінчення лікування, так і через багато років після закінчення терапії антрациклінами. Кардіотоксичність та побічні ефекти терапії антрациклінами спонукали дослідників у всьому світі досліджувати аналоги/похідні вихідних препаратів [6].

У доксорубіцину та дауноміцину були введені різні хімічні модифікації для отримання нових антрациклінів. Ідарубіцин – напівсинтетичне похідне даунорубіцину, що характеризується відсутністю метоксигрупи на С-4 у кільці D тетрациклічної структури. Це надає сполуці високу ліпофільність, що призводить до збільшення швидкості клітинного поглинання порівняно з іншими препаратами антрациклінового ряду. Епірубіцин є напівсинтетичним похідним доксорубіцину, отриманим шляхом аксіально-екваторіальної епімеризації гідроксильної групи на С-4 в даунозаміна. Валрубіцин є напівсинтетичним аналогом, а мітоксантрон – синтетичним аналогом доксорубіцину. Примітно, що мітоксантрон є заміщеним агліконічним антрахіноном без даунозаміну [8].

Антрацикліни піддаються різному метаболізму, хоча приблизно половина дози доксорубіцину виводиться з організму в незміненому вигляді. Метаболізм антрацикліну може відігравати певну роль у кардіотоксичності. Наприклад, метаболіти алкоголю, будучи більш полярними, ніж вихідні молекули, накопичуються на більш високих рівнях і протягом більш тривалого часу в серці, що може сприяти цитотоксичності. Метаболіт доксорубіцину дезоксиаглікон, який є результатом деглікозидації, є більш ліпофільним, покращує мембранну

дифузію та накопичується особливо в мітохондріальній мембрані, таким чином також сприяє цитотоксичності. З іншого боку, 3-метоксифталева кислота, що утворюється в результаті окисної деградації доксорубіцину, здається набагато менш токсичною, тому було припущено, що окисне розкладання може представляти собою ту саму альтернативу, який зменшує антрациклінову цитотоксичність [9].

Існують відмінності у внутрішньоклітинному метаболізмі різних антрациклінів. Наприклад, епірубіцин: секвеструється в цитоплазматичних органелах (наприклад, рециркулюючих ендосомах, лізосомах і везикулах транс-Гольджі), тому він не досягає мітохондрій і не утворює вільних кисневих радикалів, порівняно з доксорубіцином; утворює набагато менше метаболітів етанолу порівняно з доксорубіцином; і показує унікальний метаболізм до доксорубіцинолону (продукту відновлення карбонилів і деглікозидації епірубіцину), який викликає ефекти проникнення плазматичної мембрани, що посилюють елімінацію епірубіцину. Ці метаболічні відмінності врівноважуються тим фактом, що епірубіцин демонструє вищі поглинання і рівні міокарда, ніж доксорубіцин [9].

Таблиця 1.1

Узагальнена характеристика антрациклінових антибіотиків [9]

Антибіотик антрациклінового ряду	Характеристика	Структурні відмінності
Даунорубіцин	Перша антрациклінова сполука. Виділено з ґрунтової бактерії <i>S. peucetius</i>	Бічний ланцюг закінчується метилом
Доксорубіцин	Гідроксильне похідне даунорубіцину	Бічний ланцюг закінчується первинним спиртом
Ідарубіцин	Напівсинтетичне похідне даунорубіцину	Відсутність метоксигрупи, в одному кільці тетрациклічна структура

Епірубіцин	Напівсинтетичне похідне доксорубіцину	Аксіально-екваторіальна епімеризація гідроксилльної групи в даунозамін
Валрубіцин	Напівсинтетичний аналог даунорубіцину	N-трифторацетил, похідне 1-4-валерату доксорубіцин
Мітоксантрон	Синтетичний аналог даунорубіцину	Заміщений агліконовий антрахінон, без даунозаміну

1.2. Продуценти антибіотиків антрацикінового ряду

Найбільшими по кількості досліджень антибіотики антрациклінового ряду вважаються доксорубіцин та дауноміцин. Широкого поширення в біотехнології даних антимікробних сполук набули методи генної інженерії, а саме методи генетичної експресії генів, які передбачають використання генетичної інформації для синтезу функціонального продукту (наприклад, білка).

Таким чином, в 2020 році було досліджено надмірну експресію гену, що кодує глікозилтрансферазу - *DnrS* у *Streptomyces peucetius*, як окремо так і разом з допоміжним білком *DnrQ* (P450 білок, який функціонує як алостеричний активатор ферментів). Таке інженерне рішення призвело до збільшення виходу антибіотику відповідно у 1,2 або 2,8 рази порівняно з контролем. Інактивація *DnrQ* або *DnrS* призвела до накопичення аглікону родоміцинону, демонструючи значущість обох генних продуктів для глікозилювання родоміцинону D, що є попередником даунорубіцину. А надмірна експресія генів, які кодують ферменти TDP-D-глюкозосинтази (наприклад, *DesIII*) та TDP-D-глюкоза-4,6-дегідратаза (наприклад, *DesIV*) збільшила вихід доксорубіцину в 2,6 рази. Комбінована надмірна експресія *desIII/desIV* та *dnrQ/dnrS* продемонструвала синергетичне збільшення у 5,6 разів [10].

В 2011 році було створено новий генно-інженерний штам, *S. venezuelae* YJ028, який міг синтезувати одразу декілька антрациклінових антибіотиків, а саме

доксорубіцин, даунорубіцин, родоміцин та епірубіцин. Геномні ДНК (ДНК, які містяться в хромосомах та відповідають за інформацію про спадковість) для модифікації *S. venezuelae* YJ028 були отримані з різних актиноміцетів: *S. peucetius* ATCC 29050, *S. venezuelae* ATCC 15439 та ISP 5230, *S. avermitilis* K139, *S. galilaeus* ATCC 31615, *S. fradiae* ATCC 19609 та інших. В загальному, було отримано гени, які кодують наступні ферменти: нуклеотидилтрансфераза, 4,6-дегідратаза, 2,3-дегідратаза, 3-амінотрансфераза, епімераза, 4-кеторедуктаза, метилтрансфераза, N-метилтрансфераза, 3-кеторедуктаза, пара-глікозилтрансфераза/допоміжний білок (див. вище), 10-карбометокси-13-дезоксикарміноміцин естераза, карміноміцин-о-метилтрансфераза, цитохром P450 монооксигеназа. Всі ці ферменти мають велике значення у синтезі антрациклінових антибіотиків, адже лежать у корні схеми біотрансформації за якою і проходить синтез. Експресію генів проводили за допомогою *Escherichia coli* DH5 α [11,12].

Взагалі, штами кишкової палички дуже часто використовують в таких генетичних процесах, адже це бактерія з повністю розшифрованим геномом. *E. coli* DH5 α , вважається оптимальним біологічним агентом для стабільної ампліфікації матеріалів ДНК. Штам зберігає достатню активність рекомбінази для збирання до шести дволанцюгових фрагментів ДНК та не потребує великої кількості енергії для цього. Тому в процесі експресії генів застосовуються не самі дорогі поживні середовища [11, 12].

Продовжуючи тему експресії генів, в 2014 році було порівняно *S. peucetius* ATCC 27952, який вважається диким типом даного мікроорганізму, та його експресовані штами. Для створення генно-модифікованих мікроорганізмів використовували *E. coli* XL1-Blue для клонування (містить метильовані ДНК, чим і пояснюється активне клонування, а також унеможливорює процес руйнації фрагменту від інших ферментів) необхідних генів, а *E. coli* BL21 (штам містить профаг DE3, який несе ген РНК-полімерази Т7 під контролем промотору lacUV5, що дозволяє індукувати експресію РНК-полімерази Т7 за допомогою IPTG) безпосередньо для їх експресії. Після культивування було визначено, що

отриманий штам *S. peucetius*, модифікований плазмідом рIBR-сАЕ (містить гени для надекспресії штамів штрептоміцетів), продукує майже в 2 рази більше доксорубіцину, на відміну від дикого штаму. При використанні *E. coli* XL1-Blue та *E. coli* JM110 (штам для деметилування та хімічної трансформації плазмід у клітину) для експресії генів того ж самого материнського штаму помічено, що утворений штам BG204 (вбудовано плазмід з надексперссією гену *drrAB*, який відповідає за стійкість до доксо- та даунорубіцину) синтезує у 3,5 рази більше доксорубіцину. А також може синтезувати в 3,8 раз більше дауноміцину [13,14].

Також, експресовані штами (штами, які отримані шляхом експресії генів) за аналогічною методикою, *S. peucetius* dnrO-25 та bldA-25 на 60 годині культивування синтезують більше дауноміцину ніж дикий штам. А при подальшій його очистці за допомогою ВЕРХ, окрім зазначених мікроорганізмів, *S. peucetius* bldnrO-25 має найвищу концентрацію антимікробної речовини, порівняно з вище згаданими експресованими біологічними агентами. По аналогії був створений експресований штам *S. coeruleobidus* DM-W2. В порівнянні з його попередником, *S. coeruleobidus* DM, він синтезує в 3,5 рази більше дауноміцину. В 2018 році експеримент було його повторення, але з іншим штамом - *S. coeruleorubidus* SL-7. Його рекомбінантний штам MSL204 синтезував близько 130 мг/л антибіотику [15-17].

В загальному, різні дослідження підтверджують, що гени *doxR*, *drrB*, *dnrI*, *dnrX*, *doxA*, *dnmS*, *dnrO*, *dnrI*, *dnrN*, *dnrD*, *dnmV* та *drrAB* частково або повністю впливають як на вихід кінцевої концентрації доксорубіцину та/або даунорубіцину, так і на їх активність. Наявність цих генів підтверджує, що біологічний агент здатний синтезувати один або обидва з зазначених антибіотиків. Також, існує ген, який інактивує синтез зазначених антибіотиків – *wblA* [18-22].

В таблиці 1.2 вказано значення деяких генів, які впливають на синтез антрациклінових антибіотиків.

**Значення деяких генів, які впливають на синтез антрациклінових
антибіотиків**

Материнський штаб	Ген	Функція	Джерело
<i>S. coelicolor</i>	<i>WblA</i>	Репресор біосинтезу доксорубіцину	[18]
	<i>DnrN</i>	Активує транскрипцію <i>DnrI</i>	[21]
<i>S. nogalater</i>	<i>drrB</i>	Синтез даунорубіцину	[19,21]
	<i>dnrI</i>	Регуляторний білок для експресії інших генів, що синтезують антибіотики	
	<i>dnrX</i>	Синтез дауно- та доксорубіцину	
	<i>doxA</i>	Допоміжний білок для надекспресії інших генів, що синтезують антибіотик	
	<i>dnmS</i>	Глікозилтрансфераза	
<i>S. peucetius</i>	<i>DnrO</i>	Синтез родоміцину	[20]
	<i>DrrAB</i>	Стійкість до доксо- та даунорубіцину	

Іноді, бувають випадки, коли експресія генів призводить до негативного результату. Наприклад, при трансформації в *S. peucetius* ATCC 29050 гену *drrD* концентрація синтезованого даунорубіцину мала б бути більше, ніж в материнській клітині. Але, за результатами дикий тип мав більшу концентрацію (0,5 мг/л), ніж рекомбінантний (0,3 мг/л). Але, останній синтезував більшу кількість біомаси. Цей факт підтверджує, що концентрація даного антибіотику не залежить від концентрації біомаси [23].

Є повідомлення щодо залежності кількості антибіотику від певних ферментів, які присутні в організмі. Наприклад, в 2011 році було помічено, що надмірна експресія SAM-синтетази *S. peucetius* призводить до більш високого виходу вторинних метаболітів. Надмірна експресія двох генів SAM-синтетази,

metK1-sp та *metK2-sp*, призвела до кількісного збільшення в 2,1 та 1,4 рази синтезу доксорубіцину. Також, в 2018 році було визначено вплив гістидин кінрази, експресовану в *S. peucetius* з вектором pIBR25, на вихід доксоміцина та дауноміцина. При використанні створеного штаму *S. peucetius* SHK кінцевий вихід антибіотиків складав 13 та 19 мг/л, коли в класичного штаму ATCC 27952 цей показник становив 6 та 7,5 мг/л відповідно [24, 25].

Важливим підходом в біотехнології є використання різних методів у поєднанні один між одним. Таким чином створено мутований штам *S. peucetius* SIPI-11 для якого було оптимізовано поживне середовище для культивування. Мутацію проводили за допомогою ультрафіолету. Оптимізоване середовище як джерела вуглецю та азоту використовує мальтодекстрин та дріжджовий екстракт. Оптимальний рН становить 6,2, а температура – 28 °С. Такий симбіоз дозволив отримати 1,1 г/л доксорубіцину. Для прикладу, *S. peucetius* штам ATCC 29050 синтезує 42 мг/л антибіотику, що безсумнівно не може зрівнятися з мутованим штамом [26].

Наступним за кількістю досліджень можна вважати ногаломіцин. Для даного антибіотику також застосовуються методи створення рекомбінантних штамів. Доведено, що основними генами, які впливають на концентрацію та активність даної антимікробної речовини є *SnoaW/SnoaL2* (синтезують двохкомпонентну монооксидазу), *SnoK* (синтезує карбоксилазу), *SnogA* та *SnogX* (синтезують метилтрансферазу), та *SnogD* (синтезує глікозил трансферазу) [27-29].

Для синтезу ногаломіцину в 2019 році було застосовано комбінований метод створення рекомбінантного штаму та оптимізації для нього поживного середовища. Тож, для *S. nogalater* (pWHM3-ermE*p-snoa123) оптимізовано середовище SG, основними компонентами якого є галактоза, дріжджовий екстракт та азотна дріжджова основа без амінокислот. При культивуванні на даному середовищі, продуцент за 5 днів синтезує близько 400 мг/л антибіотику. Для порівняння, материнський штам синтезує 100 мг/л [30].

Також, в 2016 році було створено рекомбінантний штам *S. nogalater* NRRL 3035, трансформований рМІХТ плазмідом (містить в собі наступні гени: *bla*, ген β-лактамази; *tsr*, ген стійкості до тіострептоні; *pgm*, ген фосфоглюкомутази; *ovmG*, *ovmI* і *ovmH*, гени ацетил-КоА-карбоксілази; *PermE*, промотор гена стійкості до еритроміцину). Порівняно з звичайним штамом, рекомбінантний синтезував в 1,4 рази більше ногаломіцину [31].

В 2017 році було досліджено ко-культивування (комбіноване культивування, або ж культивування декількох штамів одночасно в певних співвідношеннях) змінених генною інженерією штамів *S. venezuelae*. Штам YJ183/pAKV та YJ183/pRHO вирощували для отримання аклациноміцину та родоміцину. Таким чином, встановлено, що при співвідношенні культур 1:1 синтезується найбільша кількість антибіотиків. Утворюється близько 4 мг/л аклациноміцину та 0,8 мг/л родоміцину, що на 80% вище, ніж культивувати дані штами окремо [32].

Для деяких антибіотиків нині розглядають їх альтернативних продуцентів. В 2018 році розглядали *Nonomuraea rhodomycinica* NR4-ASC07 як одного з ймовірних промислових продуцентів антибіотику родоміцину. Даний ізольований штам може синтезувати майже 9,0 мг/л антибіотику, що робить його доволі привабливим біологічним агентом. Звичайним продуцентом даної антимікробної речовини вважається *S. purpurascens* [33,34].

Було досліджено вплив памаміцину-607 на синтез на сінерубінів. При культивуванні *S. tauricus* JSM 4837 на поживному середовищі з додаванням цього антибіотику спостерігається підвищення синтезу сінерубіну А в 1,7 раз (контроль 6,1 мг/л, з антибіотиком – 10,1 мг/л), а сінерубіну В в 1,9 разів (контроль 4,76 мг/л, з антибіотиком – 9,17 мг/л) [5].

В 2015 році було досліджено очистку місаміцину. Для отримання антибіотику на очистку віддають й відфільтрований міцелій та безпосередньо бульйон, що відфільтрувався від нього. Звісно, найбільша концентрація даного антибіотику знаходиться саме у міцелію *Streptomyces* sp. YIM66403, але й не мала кількість залишається у поживному середовищі. Таким чином з 100 л

культуральної рідини було отримано 97,6 мг очищеного місаміцину, 30,3 мг з яких виділено саме з фільтрату [35]. В таблиці 1.3 зазначено деякі антибіотики антрациклінового ряду та їх продуценти.

Таблиця 1.3

Узагальнена таблиця продуцентів антрациклінових антибіотиків

Назва антибіотику	Тип біологічного агенту	Назва біологічного агенту	Література	
Доксорубіцин	Типовий продуцент	<i>S. peucetius</i> ATCC 29050	[26]	
		<i>S. peucetius</i> ATCC 27952		
	Рекомбінантний штам	<i>S. peucetius</i> pIBR-cAE	[13]	
		<i>S. peucetius</i> SHK	[25]	
		<i>S. peucetius</i> ΔHK		
		<i>S. peucetius</i> ΔHK25		
		<i>S. peucetius</i> HK25		
		<i>S. lividans</i> DrrA ATP	[24]	
<i>S. venezuelae</i> YJ028	[11]			
Мутований штам	<i>S. peucetius</i> SIPI-11	[26]		
Даунорубіцин	Типовий продуцент	<i>S. peucetius</i> ATCC 27952	[15]	
		<i>S. peucetius</i> ATCC 29050	[23]	
		<i>S. coeruleobidus</i> DM	[16,36]	
		<i>S. coeruleorubidus</i> SL-07	[17]	
Рекомбінантний штам	<i>S. peucetius</i> dnrO-25	[15]		
	<i>S. peucetius</i> bldA-25			
	<i>S. peucetius</i> bldnrO-25			
	<i>S. peucetius</i> drrD	[23]		
	<i>S. coeruleobidus</i> DM-W2	[16]		
	<i>S. coeruleobidus</i> MSL204	[17]		
	<i>S. coelicolor</i> AfsR	[36]		
Ногаломіцин	Типовий продуцент	<i>S. nogalater</i> ATCC 27451	[29]	
		<i>S. nogalater</i> NRRL 3035	[30,31]	
		<i>S. nogalater</i> DSM 40546	[26]	
	Рекомбінантний штам	<i>S. albus</i> pSnoDaL2		
		<i>S. albus</i> pSnoDaW		
		<i>S. albus</i> pBAD/HisBD		[28]
		<i>S. albus</i> pSnoΔgN		[29]
		<i>S. nogalater</i> pFL492	[30]	
<i>Streptomyces</i> sp. VN1	[37]			
Родоміцин	Типовий продуцент	<i>S. peucetius</i> ATCC 27952	[38]	
		<i>S. purpurascens</i> MTCC	[39]	

		8547	
		<i>S. purpurascens</i> NBRC 13077	
	Рекомбінантний штам	<i>S. purpurascens</i> KN-6	[32,40]
		<i>S. venezuelae</i> YJ028	
	Інші продуценти	<i>S. violaceus</i> S21	[41]
		<i>N. rhodomycinica</i> NR4-ASC07T	[33]
		<i>S. spectabilis</i> R1	[42]
<i>S. lavendofoliae</i> Y8			
Сінерубін	Типовий продуцент	<i>S. niveoruber</i> 3T – 5	[43]
	Рекомбінантний штам	<i>Streptomyces</i> sp. SPB74	[44]
		<i>S. tauricus</i> JSM 4837	[33]

1.3. Антимікробна властивість антрациклінів

Деякі антрациклінові антибіотики мають не лише протипухлинну, а й антимікробну активність проти різних грампозитивних і грамнегативних бактерій [45]. Окрім того, відомо чимало випадків пригнічення антрацикліновими антибіотиками ферментів мікроорганізмів, які відіграють важливі функції. Приклади пригнічення ензимів різних біологічних агентів продемонстровано в табл. 1.4.

Таблиця 1.4

Ферменти, які можуть інгібуватись антибіотиками антрациклінового ряду

Антибіотик	Фермент, що інгібується	Продуцент ферменту	МІК, μM^*	IC_{50} , μM^{**}	Джерело
Доксорубіцин	Топоізомераза II	<i>Trypanosoma rangeli</i>	>100	>100	[46]
	Пірофосфатаза	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5	>100	[47]
				7.7 ± 0.5	
	Примаза	<i>Bacillus anthracis</i> 34F2	-	4.4 ± 0.3	[48]
	ДНК гіраза		100	-	
	АТФ-залежна ДНК лігаза	Бактеріофаг T4	-	-	[49]
	НАДН-залежна лігаза	<i>Escherichia coli</i>	-	-	
Даунорубіцин	ДНК хеліказа	<i>Plasmodium falciparum</i> K1	-	23	[50]
			-	30	
	Пірофосфатаза	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,25	>100	[47]
	Примаза			7.2 ± 0.3	

Ногаломіцин	Протеаза	SARS-CoV-2	-	6.67	[51]
	Топоізомераза II	<i>Staphylococcus aureus</i> RN4220	8	-	[52]
	АТФаза	<i>Plasmodium falciparum</i>	-	2,1-9,35	[53]
	Хеліказа 45		-	0,5	[54]
	Хеліказа А		-	5	
	Хеліказа 60		-	1,5	
	Хеліказа 45	<i>Plasmodium cynomolgi</i>	-	1,7	
	Дезокси-рибонуклеаза I	<i>Micromonospora echinospora</i> MG299-fF35	-	6,1	[55]
	Нуклеозид трифосфатаза	Japanese encephalitis virus NS3	-	-	[56]
Топоізомераза II	Tobacco BY-2	31,5	-	[57]	
Ідарубіцин	Топоізомераза II	<i>Trypanosoma rangeli</i>	100	0.49 ± 0.27	[46]
	Пірофосфатаза	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	80	8.2±1.1	[47]
	Примаза			>100	

Примітка: *МІК – мінімальна інгібуюча концентрація, **IC₅₀-концентрація напівмаксимального інгібування

1.4. Механізм дії антрациклінових антибіотиків

Незважаючи на широке і відносно усталене використання відомих антибіотичних речовин в протипухлинній терапії, механізм їх дії досі повністю не вивчений. Антрацикліни належать до протипухлинних циклозалежних та фазоспецифічних препаратів. Вони мають складний механізм дії, який включає: інтеркаляцію в ДНК, пригнічення синтезу макромолекул, утворення зв'язків між азотистими основами ДНК, алкілування ДНК, зшивання ДНК, інгібування топоізомерази I і II – ключових ферментів у синтезі ДНК, і утворення вільних радикалів, які пошкоджують ДНК і призводять до перекисного окислення ліпідів. Вважається, що ініціювання пошкодження ДНК шляхом інгібування

топоізомерази II, що призводить до апоптозу, є домінуючим механізмом терапевтичної дії антрациклінів, а також їх кардіотоксичності, опосередкованої топоізомерази-II β в кардіоміоцитах [6].

Топоізомерази - це ферменти, які викликають розплутування або розкручування подвійної спіралі ДНК, процес, необхідний для реплікації та транскрипції ДНК. Інгібування топоізомерази II в ракових клітинах полягає в утворенні комплексу антрациклін-ДНК-топоізомераза II, що призводить до фрагментації ДНК і, як наслідок, до інгібування клітинної проліферації та загибелі клітини [6].

1.5. Інгібітори протипухлинних антибіотиків

Оскільки питання протипухлинних антибіотиків зараз доволі рідко розглядаються, інформації стосовно інгібіторів доволі мало. У загальній картині, більшість науковців мпираються на інгібіторів не самих антибіотиків, а речовин, що вступають до їх метаболізму в організмі, а конретно ферментів. Конкретно редуктаз. В одному з досліджень зазначається, що пригнічення роботи доксорубіцину в організмі найбільш за все спричиняється цетином і кверцитрином. Такі дослідження проводять задля пригнічення кардіотоксичної побічної дії [58].

В статті 2019 року було розглянуто піперлонгумін (алкалоїд) як інгібітор доксорубіцину. Незважаючи на те, що алкалоїд виступав як пригнічувач, при сумісному лікуванні з антибіотиком, речовини показали значні синергічні протипухлинні властивості. Було встановлено, що пригнічення метаболізму доксорубіцину за допомогою піперлонгумін є механізмом, який, ймовірно, відповідав за спостережувану взаємодію [59].

У роботі 2010 року як відомі інгібітори доксорубіцину також зазначаються менадіон, кверцетин, кверцитрин. Окремо висвітлено інгібуючу дію похідної орацину – ізокіноліну. Як у більшості робіт, така дія спрямована на зниження побічної дії антибіотику, а також підвищення його протипухлинної активності у парі з інгібітором [60].

Для даунорубіцину інгібітором редуктази є куркумін. Пригнічення саме ферментів пояснюється тим, що редуктази переводять антибіотики у спиртові форми. Тобто, антрацикліновий протипухлинний препарат даунорубіцин перетворюється у даунорубіцинол. Вторинний метаболіт алкоголю даунорубіцинол має значно знижену протипухлинну активність і проявляє підвищену кардіотоксичність, що обмежує клінічне застосування даунорубіцину [61].

1.6. Резистентність до антибіотиків антрациклінового ряду

Лікарська стійкість є істотним фактором, який обмежує ефективність сучасних хіміотерапевтичних препаратів. Хоча резистентність може розвиватися за допомогою різноманітних механізмів, множинна лікарська резистентність через надмірну експресію транспортерів ліків, таких як Р-глікопротеїн, є визнаною причиною лікарської стійкості. Р-глікопротеїн – це трансмембранний білок, кодований геном *MDR1* в клітинах людини. Саме цей компонент є однією з причин акумуляції ліків в організмі, з подальшим виникненням резистентності до них [62].

Низка досліджень показала, що доксорубіцин вбудовується в молекули ДНК. Зв'язування доксорубіцину з ДНК пригнічує ДНК-полімеразу та синтез нуклеїнових кислот. Крім того, доксорубіцин стабілізує розщеплюваний комплекс між ДНК і субодиницями ферменту топоізомерази II, що призводить до утворення дволанцюгових розривів ДНК, пов'язаних з білками. Тому, і відбувається накопичення доксорубіцину, оскільки Р-глікопротеїн намагається зменшити доступ доксорубіцину до ядерної системи [62].

При оцінці ступеня відповіді на лікування в клініці ретроспективно можна говорити про чутливість до антрациклінових антибіотиків на основі таких даних: регресія пухлинних вогнищ на фоні терапії з антрациклінами; тривалість безрецидивного періоду після закінчення терапії з антрациклінами (до початку наступної лінії хіміотерапії з приводу прогресування хвороби) [63].

Первинна резистентність до антрациклінових антибіотиків визначається наступними критеріями: відсутність позитивної динаміки при використанні 1-ї

лінії хіміотерапії з антрациклінами; прогресування процесу на фоні хіміотерапії з антрациклінами; безрецидивний період після терапії з антрациклінами < 6–12 міс [63].

Набута резистентність до антрациклінових антибіотиків може бути як перехресною, так і неперехресною. Перехресну резистентність відзначають до препаратів групи антрациклінових антибіотиків (наприклад фармарубіцину), препаратів платини (цисплатину, карбоплатину), актиноміцину, вінкаалкалоїдів (вінкристину, вінбластину), етопозиду. Також має місце неповна перехресна резистентність між доксорубіцином та мітоксантроном та різними агентами антрациклінової групи при збільшенні дози. Резистентність може бути виявлена при підвищенні дози препарату: наприклад, якщо підвищення дози доксорубіцину не долає резистентності до цього препарату. Використання монотерапії з мітоміцином, флуороурацилом, вінорелбіном, таксанами продемонструвало різну активність з середньою тривалістю безрецидивного періоду 6–7,5 міс у випадку резистентного до антрациклінів раку молочної залози. Комбінації цих препаратів дозволяють збільшити медіану безрецидивного періоду до 9,0–11,5 міс. Треба відзначити, що тільки у 20% випадків при резистентності до антрациклінів можна спостерігати позитивну відповідь з боку пухлини при терапії іншими препаратами. Найкращі результати при резистентності до доксорубіцину отримують при використанні комбінації таксанів з флуороурацилом та таксанів з цисплатином [63].

Резистентність або чутливість пухлини до цитостатичних препаратів значною мірою залежить від їх проліферативної активності. Висока проліферативна активність властива пухлинам високого ступеню злоякісності з низьким ступенем диференціювання та високим метастатичним потенціалом. Якщо звернутися до класичних канонів протипухлинної хіміотерапії, надзвичайно важливою виявляється здатність хіміопрепаратів впливати на клітину в певних фазах клітинного циклу. Загальновідомо, що чим більше клітин знаходиться у клітинному циклу, тим вищою є чутливість до протипухлинних препаратів різних хімічних груп та, як наслідок, більшою є ступінь лікувального патоморфозу [63].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

Найпоширенішим антибіотиком антрациклінового ряду є доксорубіцин. Наразі, саме стосовно цієї антимікробної речовини виконується багато досліджень. Проте, він має великий недолік як кардіотоксичність. Тому, пропонується в подальшому розглянути інший антибіотик цього ж ряду, а саме ногаломіцин, оскільки його дослідження ведеться до сьогоднішнього дня.

Класичними продуцентами антрациклінових та антибіотиків в цілому є стрептоміцети. Нині, при синтезі протипухлинних мікробних препаратів широкого поширення набули саме методи генної інженерії. Сучасні дослідження вдало використовують різні вектори для створення надсинтезуючих штамів-продуцентів. Такі експерименти спрямовані на потенційне здешевлення діючої речовини, адже антрациклінові антибіотики нині є доволі дорогими, але діючими засобами проти різних типів раку.

Крім стандартної дії, спрямованої на лікування раку, антрациклінові антибіотики мають антимікробну дію. Механізм їх впливу найчастіше заключається в інгібуванні важливих ферментних систем в біологічних агентах. За оглядом літератури було визначено, що антимікробні речовини впливають як на грампозитивні так і на грамнегативні бактерії.

Механізм протипухлинної дії антибіотиків антрациклінового ряду вивчено не досконало. Але, добре відомо, що антимікробні сполуки впливають на руйнування ДНК, шляхом інгібування дуже важливого ензиму – топоізомерази II класу. На сьогодні це вважається основним механізмом.

Крім того, як і звичайні антибіотики, антрациклінові речовини можуть викликати резистентність. Однією з причин такого звикання є Р-глікопротеїн. Окрім того, набута резистентність може бути як перехрестною, так і неперехрестною. Основною причиною цього проблемного питання вважається зavelика доза препарату.

РОЗДІЛ 2

АНАЛОГИ АНТРАЦИКЛІНІВ ТА РЕЧОВИНИ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИКОРИСТОВУВАТИСЬ В ХІМІОТЕРАПІЇ ЗАМІСТЬ НИХ

2.1. Біологічні агенти, які можуть синтезувати аналоги та інші речовини для хіміотерапії

Наразі багато науковців шукають альтернативні варіанти антрацикліновим антибіотикам, у зв'язку з їх довгим використанням, а також виникнення побічних ефектів. Чимало досліджень стосовно промислового виробництва таксолу та його можливих похідних. Основним джерелом цих сполук вважаються різні сорти тиси *Taxus* sp., але найчастіше за все в роботах зустрічаються *T. canadensis* та *T. brevifolia*. З останнього й було виділено ген, який відповідає за синтез таксодієн синтази, та вбудовано у *Escherichia coli*. Шляхом оптимізації метаболічного шляху з використанням метилеритритол-фосфату було досягнуто концентрацію близько 1 г/л таксодієну. Також, активно вивчаються штами *E. coli* K і B. При більш детальному вивченні цих штамів було визначено, що на кінцеву концентрацію напряму впливає температура, а індол пригнічує ріст обох штамів [64].

Також, повідомляється про синтез й інших таксолів. Наприклад, у статті 2013 року зазначається можливий синтез паклітакселу за допомогою *Taxomyces andreanae*. В цій же статті зазначаються й інші протипухлеві речовини. Подофілотоксин вперше виділений з подофіл *Podophyllum* sp. Дана речовина може синтезуватись біотехнологічним шляхом з гриба *Aspergillus fumigatus*. Лейциностагин А також може використовуватись у протираковій терапії. Його мфкробіологічним продуцентами є *Acremonium* sp. [65].

Перспективними є метаболіти вітамінів. В статті 2013 року зазначається можливість використання похідного вітаміну D – кальцитріолу для лікування раку молочної залози. У 2015 році було виведено біотехнологічний метод

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Дячина Ю.М.				РОЗДІЛ 2 АНАЛОГИ АНТРАЦИКЛІНІВ ТА РЕЧОВИНИ, ЯКІ МОЖУТЬ ВИКОРИСТОВУВАТИСЬ В ХІМІОТЕРАПІЇ ЗАМІСТЬ НИХ	Лім.	Арк.	Аркунів
Перевір.	Стабніков В.П.						24	100
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

синтезу цього метаболіту. Як продуцент виступає *Pseudonocardia* sp. КСТС 1029ВР. Особливість технології визначається в тому, що спочатку одержують вітамін D3, використовуючи 2 середовища для культивування. Перше – глюкозо-сойтонове (глюкоза – 15 г/л, сойтон – 15 г/л, NaCl – 5 г/л, CaCO₃ – 2 г/л), а друге – модифіковане глюкозо-сойтонове середовище (глюкоза – 10 г/л, сойтон – 5 г/л, дріжджовий екстракт – 5 г/л, рибне борошно – 10 г/л, K₂HPO₄ – 0,1 г/л, NaF – 0,1 г/л, NaCl – 2 г/л, CaCO₃ – 2 г/л). На першому середовищі культуру витримують 3 дні при 28 °С, рН=7 при 180 об/хв, а на другому вже 5 днів при тих самих умовах. Після чого, здійснювали біоконверсію вітаміну для одержання кальцитріолу. Біоконверсію ініціювали додаванням 180 мл 5 % розчину вітаміну D3. Початкова концентрація вітаміну D3 у реакційній суміші ферментатора становила 200 мг/л. Умови біоконверсії включали швидкість перемішування 500 об/хв і швидкість аерації 1,0 об/хв при 28°С протягом 10 днів. У результаті вдалося одержати близько 61.87 мг/л кальцитріолу. Також, в роботі зазначається можлива біоконверсія іншого продуценту – *Pseudonocardia autotrophica* (раніше, *Amicolata autotrophica*) [66,67].

В статті 2013 року зазначається можливість використання аспергілових грибів для одержання різних протиракових речовин. Наприклад, надекспресія *laeA* у *Aspergillus nidulans*, глобального регулятора транскрипції виробництва вторинного метаболізму, у поєднанні з аналізом мікрочіпів, сприяла виокремленню кластера, відповідального за продукцію протипухлинної сполуки, террехінону А. Таку ж саму технологію застосовували в 2011 році для *A. oryzae* [68,69].

У 2012 році було виділено штам бактерії *Tistrella mobilis* та *T. bauzanensis* які здатні до синтезу дідемінів, речовин, що мають протипухлеві властивості. Штам *T. mobilis* КА081020-065 вирощували на середовищі GYP (глюкоза – 10 г/л, дріжджовий екстракт – 4 г/л, пептон – 2 г/л, морська сіль – 17 г/л) при 25 °С. Через 72 години до суміші додавали етилацетат культури для виділення метаболітів. Окрім вивченого дідеміну В з бактерії вдалося вилучити ще дедиміни Х та Y [70].

У 2013 році було зазначено можливе застосування гіалуронану як антираковий агент. Гіалуронан являє собою суміш полімерних молекул різної довжини. Природним чином речовина виробляється потенційними патогенами, такими як *Streptococcus zooepidemicus*. За допомогою метаболічної інженерії загальноновизнаних безпечних (GRAS) організмів, було визначено безпечні альтернативні продуценти, таких як *Bacillus subtilis*, *E. coli* та *Lactococcus lactis*. За допомогою надекспресії останнього, у 2014 році було одержано рекомбінантний штам *L. lactis* APJ6, який синтезує порядку 690 ± 30 мг/л гіалуронану [71, 72].

Депсипептид кагалалід F пройшов фазу II випробувань в Європі в 2004 році як протипухлинний засіб у пацієнтів з недрібноклітинним раком легенів стадії ШВ. Вперше сполука виділена з травоїдного молюска *Elysia rufescens*. Пізніше кагалалід F та додаткові аналоги були описані з бактерій, пов'язаних з *Bryopsis* sp. та *E. rufescens*. Вдалими прикладами є отримання кагалаліду F з культур бактерій *Vibrio mediterranei* [73].

Епотилони – це кільцеві полікетидні макролідні лактони, що виробляються міксобактерією *Sorangium cellulosum*, які спочатку були розроблені як протигрибкові засоби проти грибків іржі. Нині, ці препарати використовуються проти раку у тих випадках, коли пухлини є стійкими до таксолів. До таких речовин відносяться епотилони (А,В,С та D), іксебепілон, дексоепітелон F та інші [74].

Новий антибіотик, що демонструє протипухлинну активність, був виділений із спільної культури, яка була присутній у дренажній системі покинутої шахти, де переважні умови є екстремальними. Таке оточуюче середовище призводить до захисних і наступальних мікробних взаємодій для виживання. Двома членами спільної культури були бактерія *Sphingomonas* sp. КМК-001 і гриб *A. fumigatus* КМС-90. Новий дикетопиперазиновий дисульфід, гліонітрин А, був виділений із спільної культури, але не був виявлений в окремо в КМК-001 або КМС901. Гліонітрин А являє собою дикетопиперазиндисульфід, що містить нітроароматичне кільце. Він виявив значну антибіотичну активність проти ряду мікробів, включаючи стійкий до метициліну золотистий стафілокок. Аналіз

цитотоксичності показав, що він має потужну субмікромолярну цитотоксичну активність щодо чотирьох ліній ракових клітин людини: HCT-116, A549, AGS та DU145 [74].

Камптотецин – це модифікований монотерпеновий індоловий алкалоїд, що виробляється деякими рослинами. Його також виробляє ендofітний гриб *Entrophospora infrequens*. Препарат використовується для лікування рецидивуючого раку товстої кишки і має незвичайну дію проти раку легенів, яєчників і матки. Водорозчинні похідні камптотецину іринотекан і топотекан також використовуються клінічно [74].

З морських вод також нерідко виділяють нові протиракові речовини. Курацин А, отриманий з морської ціанобактерії *Lyngbya majuscula*, виділеної на Кюрасао, виявив потужну протипухлинну активність. Інші протипухлинні засоби, отримані з морських джерел, включають елеутеробін, дискодермолід, бріостатини, доластатини та цефалостатини. Морське середовище продовжує відкривати нові можливості для відкриття протипухлинних засобів. Незодавно було відкрито новий рід актиноміцетів *Salinispora* та два його види — *S. tropica* та *S. arenicola*. Для росту їм потрібна морська вода. *S. tropica* виробляє новий біциклічний g-лактон β-лактам під назвою саліноспорамід А, який є інгібітором протеасом. Препарат, наразі, знаходиться у фазі II клінічних випробувань проти множинної мієломи та лімфоми мантийних клітин. Також рід *Marinophilus* містить види, які виробляють нові полієни, які не мають протигрибкової активності, але демонструють потужну протипухлинну активність [74].

Доволі часто звертають увагу на макрогриби, як потенційних агентів для синтезу нових протипухлинних препаратів. Фелігрідини є цікавими похідними стирилпірону з видів грибів *Inonotus* і *Phellinus*. Фелігрідини С-Ф показали *in vitro* селективну цитотоксичність щодо клітинної лінії раку легенів людини та клітинної лінії раку печінки. Тритерпени, виділені з видів *Ganoderma*, були ідентифіковані як потужні протиракові засоби. Було показано, що тритерпеноїди, такі як ганодерінова кислота, люцидимол, ганодермандіол, ганодеріол F і ганодерманонтріол, надають цитотоксичну дію на різні ракові клітини. Екстракти

міцелію та плодових тіл *Antrodia camphorata* є потенційними хіміотерапевтичними засобами проти багатьох типів раку, включаючи лейкемію, рак печінки, передміхурової залози, раку молочної залози, сечового міхура та легенів у допоміжній терапії раку [75].

Зовсім нещодавно, у статті 2022 року було проаналізовано ізольовані штами *Streptomyces* sp. SH4, SH12, SH8, SH10 та SH13. Більшість з зазначених ізолятів здатні синтезувати нові протипухлинні антибіотики. До них відносяться: атраміцин А, антибіотик BE 12406A, ландоміцин I та віріденоміцин [76].

2.2. Порівняльна характеристика антибіотиків та їх аналогів

Наразі, доволі популярно виробляти похідні антрациклінових антибіотиків, напівсинтетичним та синтетичним шляхом. Таким прикладом можуть стати епімери доксорубіцину (DOX) і даунорубіцину (DNR) - епідоксорубіцин (EDOХ), епідоксорубіцин (EDOХ) і епідаунорубіцин (EDNR; поки що не використовується в лікуванні раку). Це напівсинтетичні похідними DNR і DOX, отриманими відповідно шляхом епімеризації гідроксильної групи на С-4' в структурі даунозаміну від екваторіального до осьового положень. EDOХ є аналогом другого покоління, який був запропонований як альтернатива DOX з меншою токсичністю [6].

Модифікації хімічної структури шляхом, наприклад, заміни фрагмента NH₂ призводять до утворення нових і перспективних аналогів антрацикліну (формамідиноантрациклінів). Показано, що ці нові похідні антрациклінів демонструють меншу токсичність і кардіотоксичність разом зі здатністю долати бар'єр лікарської стійкості *in vitro*, а також високу протипухлинну активність у порівнянні з вихідними сполуками. Іншим цікавим аналогом антрациклінових антибіотиків є похідне DNR - оксазолінодаунорубіцин (DNR -OXZL). DNR-OXZL містить оксазолінове кільце, пов'язане з даунозаміновою частиною, і, здається, має покращені властивості (вищу протиракову ефективність, нижчу кардіотоксичність тощо), ніж DNR [6].

Аннаміцин є ліпофільним аналогом доксорубіцину, призначеним для подолання множинної лікарської резистентності (МЛУ), типової для

доксорубіцину. Ранні дослідження показали, що аннаміцин виражає більшу інгібування ферменту топоізомерази II. Аннаміцин був обраний для подальшого дослідження частково через його відсутність перехресної резистентності та високу спорідненість до ліпідних мембран. Вважається, що аннаміцин має меншу кардіотоксичність порівняно з даунорубіцином, оскільки аннаміцин рівномірно розподіляється в серцевому і несерцевому м'язах, на відміну від даунорубіцину, який переважно там накопичується [77].

Дексразоксан вперше був розроблений як інгібітор топоізомерази II, але виявив дуже слабку протипухлинну дію. Однак він також діє як хелатор вільних радикалів кисню і при введенні перед хіміотерапією антрациклінами і, ймовірно, запобігає довготривалій кардіотоксичності. Таким чином, дексразоксан був схвалений як кардіопротекторний засіб для пацієнтів з метастатичним раком молочної залози, які досягли певної кумулятивної дози антрациклінів для запобігання кардіотоксичності, пов'язаної з продовженням терапії на основі антрациклінів. Дексразоксан також схвалений FDA для лікування екстравазації антрациклінової хіміотерапії. Потенційні побічні ефекти, пов'язані з дексразоксаном, включають мієлосупресію та реакції у місці ін'єкції [77].

Восароксин, небактеріальне похідне хінолонів, є одним із новітніх інгібіторів топоізомерази II. Подібно до антрациклінів, восароксин потужно інгібує топоізомеразу II і викликає розриви дволанцюгової ДНК. Проте восароксин не чутливий до механізмів резистентності, пов'язаних з МЛУ. Вважається, що восароксин має менше кардіотоксичних явищ порівняно з антрациклінами через те, що він не пов'язаний з утворенням вільних радикалів, активних форм кисню або токсичних метаболітів. Більшість небажаних явищ пов'язані з панцитопенією і включають фебрильну нейтропенію та стоматит [77].

СРХ-351 – це ліпосомна композиція цитарабіну та даунорубіцину у фіксованому нано-молярному співвідношенні 5:1. Цей препарат був схвалений FDA у 2017 році. Враховуючи компонент даунорубіцину, зберігається ризик кардіотоксичності [77]. В таблиці 2.1. зазначено порівняльну характеристику антрациклінів та їх аналогів.

Деякі аналоги антрациклінових антибіотиків та їх особливості

Антибіотик	Аналог	Шлях синтезу	Особливості	Джерело
Доксорубіцин	Аннаміцин	Напів-синтетичний, з доксорубіцину	Аннаміцин не має аміногрупи в цукровій частині, як у доксорубіцину. Видалення цієї групи зменшує серцеву токсичність, не змінюючи її протипухлинних властивостей. Аннаміцин вбудовується в ДНК і інгібує топоізомеразу II. Це призводить до інгібування реплікації та репарації ДНК, а також синтезу РНК і білка.	[77]
	Валрубіцин (AD-32)	Хімічно-ферментний шлях, з доксорубіцину	Похідне доксорубіцину. За характеристикою подібний до аннаміцину. Однак, валрубіцин має токсичні побічні ефекти та необмежений розподіл у тканинах. Крім того, через погану розчинність у воді та біологічну сумісність його застосування обмежено.	[78,79]
	Бензарубіцин (AD-198)	Синтетичний	Конгенерат доксорубіцину. На відміну від батьківського антибіотику, AD198 спрямований на протеїнкіназу C (PKC) у цитоплазмі клітин.	[80,81]
	Даунорубіцин	Аріметаміцин А	Синтетичний	Гібрид доксо- да даунорубіцину. Гібрид пригнічує топоізомеразу II.
Ногаломіцин	Меногаріл	Напівсинтетичний	Меногарил не має 7-O-L-ногалози і функціонує як інгібітор топоізомерази II, як і більшість антрациклінів, однак цей засіб все ще виявився занадто токсичним для клінічного застосування.	[30]
	NSC 82892	-	Аналог ногаломіцину.	[83]
	NSC116555	-	Інгібітор топоізомерази, наразі ще досліджується	[84]

Закінчення табл.2.1.

Родоміцин	Обельміцин	Культивування <i>Streptomyces</i> <i>purpurascens</i> KN-6	Похідне родоміцину. Містить L-родинозу разом з L- родозаміном і 2-дезокси фукозу.	[39]
	Алдіміцин		Новий аналог родоміцинону, наявність 2-дезокси фукози	

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

Проаналізувавши літературу, можна визначити, що існує величезна кількість різних протипухлинних препаратів, які не є антрацикліновими антибіотиками, але є їх альтернативою. Протипухлинні речовини синтезуються рослинами, морськими жителями та різними біологічними агентами. Окрім того, це не завжди повинні бути саме антибіотики. Протипухлинними препаратами можуть бути як похідні вітамінів, так і похідні різних кислот. Найбільшу увагу зараз приділяють речовинам, які можна вилучити з морських вод.

Як похідні антрациклінів виступають різні речовини, які найчастіше утворюються синтетичним або напівсинтетичним шляхом. Також, поширена практика застосування комбінованих препаратів, які мають в своєму складі антибіотики антрациклінового ряду. Це робиться з метою зменшення негативного впливу, який присутній у доксорубіцину та даунорубіцину. Похідні цих речовин також направлені, в першу чергу, на кардіотоксичного впливу після терапії «батьківськими» препаратами.

РОЗДІЛ 3

ТЕХНІКО ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА НОГАЛОМІЦИНУ

3.1. Аналіз фармакологічних властивостей ногаломіцину, галузей використання, потреби у антрацикліні

Антрациліни, що продукуються переважно грампозитивними бактеріями роду *Streptomyces*, що живуть у ґрунті, є ароматичними полікетидами, які часто виявляють високу цитостатичну активність. Кілька представників цієї групи, наприклад епірубіцин і доксорубіцин, є одними з найбільш використовуваних протиракових засобів у всьому світі [85].

Біосинтез антрациклінового антибіотику в *Streptomyces* починається з утворення полікетидного скелета, який утворюється шляхом повторного додавання одиниць малонатного подовжувача до ацетатних або пропіонатних праймерів полікетидсинтазою II типу спільно з циклазами, ароматазами та кеторедуктазами. Агліконовий скелет додатково модифікується адаптованими ферментами, включаючи гідроксилази, метилази та амінотрансферази, що призводить до великої різноманітності метаболітів [85].

Streptomyces nogalater продукує ароматичний полікетид ногаламіцин, який містить вуглеводні фрагменти ногалози і ногаламіну. Приєднання ногаламіну до аглікону є дуже сильним, оскільки воно передбачає утворення вуглець-вуглецевого зв'язку. Другий зв'язок утворюється через О-глікозидний зв'язок з вуглецем та ногаламіном. Приєднання фрагментів цукру до натуральних продуктів за допомогою зв'язків С–С було описано в кількох випадках, наприклад, урдаміцину, гілвокарцину, гедаміцину і гранатицину, але комбінація обох типів зв'язків у ногаламіцину є досить унікальним і ставить цікаві питання щодо порядку приєднання та хімії цього етапу глікозилювання [85].

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Дячина Ю.М.</i>			РОЗДІЛ 3 ТЕХНІКО ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					33	100
<i>Реценз.</i>						<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Механізм дії ногаламіцину є наступним. Антрацикліновий антибіотик проникає в ДНК і взаємодіє з топоізомеразою I, тим самим пригнічуючи реплікацію та відновлення ДНК, а також синтез РНК і білка. Така робота притаманна більшості антибіотичних протипухлинних речовинам. В загальному, він відіграє роль протипухлинного агента, кардіотоксичного агента, бактеріального метаболіту та інтеркалятора [86, 87].

Агенти, які здатні вставлятися між послідовними основами в ДНК, таким чином перегинаючи, розкручуючи або іншим чином деформує її і, таким чином, перешкоджаючи її належному функціонуванню. Вони використовуються при дослідженні ДНК. Ногаломіцин також відноситься до цієї групи речовин [86].

При неналежному використанні, а саме при завищених концентраціях, антибіотик може бути дуже небезпечним. При пероральному вживанні та потраплянні на шкіру ногаломіцин може викликати гостру інтоксикацію організму. Такий самий ефект відмічається при вдиханні антибіотику. В підвищених концентраціях може бути канцерогенним, тому важливість дози відіграє ключову роль в лікуванні раку. Також, може негативно вплинути на репродуктивну функцію організму [86].

При роботі з ногаломіцином як з реагентом є наступні інструкції та застереження. Необхідно ретельно прочитати та дотримуватись всіх інструкцій з безпеки перед використанням. Уникати надмірного вдихання порошку. Ретельно вимити руки після роботи з антибіотиком. Не їсти, не пити та не курити під час використання цього продукту. Використовувати тільки в добре провітрюваному приміщенні. Обов'язково надягати засоби захисту. У разі проковтування звернутися за невідкладною медичною допомогою. У разі потрапляння на шкіру промити великою кількістю води. У разі вдихання вивести обов'язково потрібно прополоскати рот, після чого вивести людину на свіже повітря, викликати швидку медичну допомогу. Після роботи з антибіотиком необхідно зняти забруднений одяг і вимити його перед повторним використанням. Сам препарат зберігати в контейнері з щільною кришкою. Вміст та контейнер піддаються утилізації [86,88].

Обов'язковим моментом у розробці препарату є перевірка таких параметрів як LD50 (напівлетальна доза) та LDLo (найменша смертельна доза). Таке дослідження було проведено і для ногаломіцину. Результати представлено в табл.3.1 [86].

Таблиця 3.1

Летальність доз ногаломіцину для піддослідних тварин [86]

Організм	Тест	Шлях введення	Доза	Ефект
Щурі	LD50	Внутрішньо-черевинний	500 мкг/кг	-
	LDLo	Внутрішньо-венний	4600 мкг/кг	ШКТ: гіпермоторика, діарея та інші зміни
Миші	LD50	оральний	Більше 300 мг/кг	-
		Внутрішньо-черевинний	13750 мкг/кг	-
	LDLo	Внутрішньо-венний	8500 мкг/кг	Початковий негативний вплив на шкіру та шкірні залози
250 мкг/кг			Поведінка: м'язова слабкість; органи дихання: гострий набряк легень, пригнічення дихання	
Собаки	LDLo	Внутрішньо-венний	250 мкг/кг	Поведінка: м'язова слабкість; органи дихання: гострий набряк легень, пригнічення дихання

Ногаламіцин з концентрацією 10 мкг/мл протягом 2 годин виявляє летальність проти таких ліній ракових клітин як CHO, L1210 і V16. При цьому, LD50 становить 2,74 мкг/мл, 0,25 мкг/мл і 0,15 мкг/мл [89].

Транспортування сухого препарату може здійснюватися при кімнатній температурі, але за умови короткострокових перевезень. Довгострокове зберігання має відбуватись при -20 °С протягом 3 років у вигляді порошку, і при -80 °С протягом 6 місяців та при -20 °С протягом 1 місяця у вигляді розчину [89].

Потреба у ногаломіцині

Варто зазначити, що даний антибіотик ще не введено у лікарську практику лікування раку, тому будемо розробляти новий препарат на основі наявних даних.

Ногаломіцин – це дуже потужний антибіотик антрациклінового ряду, який має широкий спектр дії проти різних ракових клітин. Тому, в таблиці 1.2. продемонстровано можливості застосування даного антрацикліну для людини [90].

Таблиця 3.2

Можливе застосування ногаломіцину для лікування різних типів раку людини [90]

Вид раку		Активність	
Ракова система	Тип ракових клітин	T/C*, %	Оптимальна доза, мг/кг/ін.
PS	Лімфоцитний лейкоз	193	5
LE	Лімфоїдний лейкоз	127	1,25
B16	Меланома	357	5
C6	Колоректальний рак	102	5
C8	Рак товстої кишки	53	0,62
CD	Рак молочної залози	57	10
LL	Рак легенів	119	0,63
PA	Адриноміцин-резистентний лімфотичний лейкоз	120	10

Примітка*: інгібування росту пухлини (T/C, %), визначене як відношення середнього об'єму пухлини для групи лікування та контрольної групи, розраховується як $T/C \% = [(середній\ об'єм\ пухлини\ групи\ лікування\ на\ день\ X)/(середній\ обсяг\ пухлини\ об'єм\ контрольної\ групи\ на\ день\ X)] \times 100$ [91]. Співвідношення T/C інгібування росту пухлини зазвичай використовується для кількісної оцінки ефектів лікування. Співвідношення T/C перетворюється на рейтинг протипухлинної активності з використанням довільної граничної точки та часто без будь-яких формальних статистичних висновків [92].

Рак молочної залози (PMЗ) займає 1-ше місце у загальній структурі злоякісних пухлин серед жінок. Захворюваність коливається від 50-60 на 100 тис. жіночого населення. Згідно з останніми глобальними оцінками Міжнародного агентства з дослідження раку (IARC), у 2020 році кількість нових випадків раку молочної залози перевищила число нових випадків раку легень у світі. Рак

молочної залози діагностовано у 2,3 мільйона жінок у світі, він спричинив близько 685 тис. смертей у 2020 році. Це була найпоширеніша причина смерті від раку у жінок і п'ята за поширеністю причина смерті від раку в цілому [93,94].

В структурі онкологічної захворюваності в Україні РМЗ займає перше місце. Щорічно в Україні реєструється понад 16 тис. нових випадків РМЗ, з них 24,5 % складають жінки репродуктивного віку. Щороку помирає понад 7,8 тис. жінок, з них понад 20 % — в репродуктивному віці. Рівень захворюваності на РМЗ за останні 30 років зріс в 2,5 рази, щорічний приріст при цьому складає 7,1 % [93].

Ризик захворіти має одна жінка з восьми, він збільшується з віком. Пікові значення показника захворюваності жінок зареєстровані у вікових групах 65-74 років, смертності – у вікових групах 65-84 роки [94].

За період 2015–2019 рр. відзначено зростання захворюваності на рак молочної залози – з 70,0 до 77,5 на 100 тис. жіночого населення. Тому, в подальшому спираємось саме на цю статистику. Станом на 2021 рік жіноче населення нашої країни складало 22 223 341 осіб [95,96].

Отже, кількість жінок хворих на РМЗ становить:

$$\frac{22\,223\,341 \times 77,5}{100\,000} = 17\,223 \text{ особи}$$

Оскільки на ринку ще не існує протипухлинного препарату на основі ногаломіцину, будемо спиратися на дані його прямого родича та конкурента, доксорубіцину. Маючи дані ногаломіцину, можемо розрахувати приблизну оптимальну дозу для однієї людини. В Україні середньостатистична вага жінки становить 71 кг. Оптимальною дозою вважається 10 мг/кг в 1 ін'єкції. Отже, приблизна кількість ногаломіцину в 1 ін'єкції має становити [97]:

$$71 \times 10 = 710 \text{ мг або } 0,71 \text{ г}$$

Оскільки хіміотерапія (при лікуванні доксорубіцином) триває один раз на 21 день і всього курсів в середньому становить 4, то необхідна кількість препарату на 1 людину в рік становить [98]:

$$0,71 \times 4 = 2,84 \text{ г}$$

3.2. Обґрунтування вибору форми випуску ногаломіцину

3.2.1. Обґрунтування форми випуску ногаломіцину

Онкологічні препарати випускаються у формі таблеток для оральної і пероральної форми прийому, капсул, а також розчинів і концентратів для внутрішньовенного, внутрішньом'язового (рідше) введення [99].

Лікарські засоби, які обираються для боротьби з онкологічними захворюваннями, відрізняє агресивна дія. Особливо це відноситься до синтетичних препаратів, що використовуються для курсового лікування шляхом внутрішньовенного введення. Лікування може супроводжуватися безліччю побічних реакцій, частина з яких вдається полегшити шляхом застосування додаткових засобів. Терапія здійснюється тільки під ретельним контролем фахівців, з відстеженням динаміки [99].

Як лікарську форму для антрациклінових антибіотиків зазвичай обирають порошок для приготування розчину для ін'єкцій (наприклад, блеоміцин, доксорубіцин, ідарубіцин, мітоміцин) або вже готовий розчин для ін'єкцій (епірубіцин). Рідше зустрічається форма концентрату для розчину для інфузій (Доксорубіцин Аккорд). Закордоном протипухлинні антибіотики також пропонуються у формі готових ін'єкцій [100-102].

Порошки для парентерального застосування — це стерильні лікарські засоби, призначені для введення шляхом інфузій, ін'єкцій (після приготування відповідних розчинів). Тобто, дана лікарська форма передбачає додаткове приготування розчину, що є не дуже комфортним рішенням для кінцевого споживача [103].

Переваги даної лікарської форми [103]:

- дозволяє точно дозувати лікарські речовини;
- більшість зберігається тривалий час;
- легко виготовляється;
- відносно дешева.

Ін'єкційне введення лікарської речовини є загально прийнятим і широко використовується в медичній практиці, це пов'язано з рядом переваг [103]:

- швидкість дії (деколи через кілька секунд);
- можливість введення лікарського препарату хворому, що знаходиться у без свідомому стані;
- лікарські речовини вводяться так, що вони обминають захисні бар'єри організму, такі як шлунково-кишковий тракт, печінку;
- введення лікарських речовин, для яких неможливі інші методи введення (інсулін, гормони);
- можливість локалізувати дію лікарської речовини;
- повністю зникають відчуття, що пов'язані з неприємним смаком, запахом лікарських речовин.

Але ін'єкційний спосіб введення має також і недоліки [103]:

- оскільки лікарська речовина вводиться обминаючи захисні бар'єри організму, то виникає загроза занесення інфекції;
- загроза емболії внаслідок попадання твердих частинок або бульбашок повітря, діаметр яких інколи перевищує діаметр дрібних судин;
- введення інфузійних розчинів безпосередньо в тканини може викликати зсув осмотичного тиску і змінити рН (виникнення відчуття болю);
- потребує високу кваліфікацію медперсоналу.

Як розчинники для ін'єкційних препаратів використовують [103]:

- 1) воду для ін'єкцій (*aqua pro injectionibus*);
- 2) 5 % розчин глюкози (*solutio Glucosi 5 %*);
- 3) ізотонічний розчин хлориду натрію (*solutio Natrii chloridi isotonica 0,9 %*);
- 4) олія персикова (*oleum Persicorum*);
- 5) олія мигдальна (*oleum Amygdalarum*);
- 6) 33 % спирт етиловий (*Spiritus aethylicus*).

Лікарські форми для ін'єкцій мають бути стерильними, стійкими і апірогенними, в окремих випадках – ізотонічними [103].

Лікарські форми для ін'єкцій поміщають в стерильні ємкості, виготовлені із спеціального скла. Для цього використовують ампули і флакони. Після їх

заповнення ампули запаюють, а флакони герметично закупорюють. При відкритті ампули її вміст втрачає стерильність, тому ці лікарські форми призначені для одноразового використання [103].

Різновидом ампул є шприцтубики, які є поліетиленовими ампулами, з'єднанні з голками. Шприць-тубики призначені для надання невідкладної допомоги. Флакони зручні тим, що в них можна безпосередньо перед застосуванням асептично готувати (розчиняти) лікарський засіб. Вміст флакона можна використовувати в декілька прийомів, зберігаючи при цьому стерильність препарату [103].

До ін'єкційних форм ДФ XI висуває наступні вимоги: відсутність механічних домішок, стерильність, стабільність, апірогенність, до окремих розчинів - ізотонічність, що вказується у відповідних нормативних документах чи рецептах. Ін'єкційні розчини можуть бути ізогідричними та ізоіонічними згідно з вимогами власних статей [104].

Для реалізації зазначених вимог необхідне дотримання особливих умов виготовлення ін'єкційних лікарських форм. Вони передбачають: вимоги до приміщення, виробничого устаткування, персоналу, лікарських і допоміжних речовин, розчинників, закупорювальних матеріалів, організації і проведення технологічних процесів (розчинення, стабілізація, фільтрування, стерилізація, упаковка, маркірування) [104].

Найважливішою складовою технологічного процесу всіх ін'єкційних лікарських форм є організація роботи в асептичних умовах і стерилізація [104].

Концентрати для ін'єкційних ліків — стерильні розчини, призначені для ін'єкцій або інфузій після розведення. Концентрати розводять до певного об'єму або певної концентрації відповідною рідиною перед застосуванням. Після розведення одержаний розчин має відповідати вимогам, які висуваються до ін'єкційних або інфузійних лікарських препаратів [105].

Концентрати випробовують на пірогени. Якщо випробування на бактеріальні ендотоксини не зазначене в окремій статті, препарат має витримувати випробування на пірогени, описані для ін'єкційних або в/в

інфузійних лікарських препаратах відповідно, після розведення до певного об'єму [105].

Медичним терміном «інфузія» називають парентеральне введення медичних препаратів і біологічних розчинів пацієнту. Інфузія виконується медичним персоналом в стаціонарних або в амбулаторних умовах, в деяких випадках – на дому [106].

Інфузійні (або еквілібровані) розчини — складні сольові розчини, які за своїм осмотичним тиском, іонним складом і рівнем рН близькі до плазми крові, здатні підтримувати життєдіяльність клітин та органів і не викликати суттєвих змін фізіологічної рівноваги в організмі. Їх називають ще фізіологічними, плазмозамінними або кровозамінними розчинами. Інфузійні розчини є найскладнішою групою лікарських засобів для парентерального застосування [107,108].

Вони повинні містити іони життєво важливих речовин у тому співвідношенні, в якому вони містяться в плазмі крові, тобто бути ізоіонічними. Наявністю і відповідною концентрацією зазначених іонів у цих розчинах забезпечується не тільки ізоіонічність та ізотонічність, а й буферність розчинів, тобто ізогідричність, яка стабілізує їх рН. У разі, коли ці розчини використовують у великій кількості, їх необхідно готувати ізогідричними, інакше порушується концентрація водневих іонів крові. Досягається ізогідричність додаванням буферних сумішей, індиферентних для організму, і таких, що не вступають у реакцію з лікарськими речовинами в розчині. Найчастіше додають фосфати і гідрокарбонати, якими в організмі регулюється рівень рН [107].

Звичайні сольові розчини мають істотний недолік: їх дія короткочасна (приблизно через 2 год виводиться з організму). В результаті цього кількість рідини у кров'яному руслі різко зменшується і артеріальний тиск знижується. Для усунення цього недоліку розчинам надають в'язкості, аналогічної такій плазми крові, додаючи різні високомолекулярні сполуки, які внаслідок значної молекулярної маси практично не впливають на осмотичний тиск інфузійного розчину [107].

Для забезпечення венозного доступу може бути застосована пункція вени, якщо тривалість інфузії не перевищує 24 годин. Для вливань тривалістю від 3 до 7 діб виконується венесекція. Для тривалих інфузійних терапій виконується катетеризація великих вен – яремної або підключичної [106].

При парентеральному введенні ліків використовуються два основні способи [106]:

- Струйний (переривчасте введення препарату, виконується за допомогою шприця);
- Крапельний (безперервне, поступове введення ліків, виконується за допомогою системи).

Концентрати для внутрішньовенних інфузій є стерильними розчинами, призначеними для інфузій після розведення. Концентрати розводять до вказаного об'єму відповідним розчинником перед застосуванням. Після розведення отриманий розчин повинен відповідати вимогам, що висуваються до інфузійних лікарських засобів [108].

Однією з додаткових вимог до концентратів для інфузій є сумісність їх з відповідними розчинами, що використовуються для розведення концентратів, стабільність після розбавлення і можливість внутрішньовенного введення [108].

Вимоги до інфузій є наступними:

- Безпека;
- Достатній та тривалий волемічний ефект;
- Швидке виведення нирками;
- Відсутність кумуляції;
- Відсутність впливу на систему згортання;
- Максимально висока добова доза;
- Максимально наблизений склад до плазми крові;
- Наявність носіїв резервних лугів;
- Економічна доступність.

Отже, спираючись на всі переваги та недоліки, доцільніше обрати готовий ін'єкційний розчин ногаломіцину. Така лікарська форма дозволяє чітко та комфортно дозувати необхідну кількість препарату, особливо у випадку використання одноразових флаконів чи ампул. Цей тип лікарського препарату не потребує додаткових підготовчих робіт у вигляді додавання фізичного розчину або іншого доцільного розчинника.

Альтернативою міг бути одноразовий шприц з готовим лікарським препаратом. Головною його перевагою є можливість багаторазового використання, а також збереження стерильності препарату. Але, оскільки процес стерилізації для такої форми є або ускладненим, або потребує вкладання додаткових коштів у якість шприців, даний метод не обираємо.

Інфузійні препарати не обираємо через їх специфіку застосування. До того ж, кількість ногаломіцину для однієї людини не є такою великою. Якби хіміотерапія даним препаратом проходила на постійній основі, застосування такого препарату було б доцільним.

Порошки для приготування ін'єкційних форм також є доволі перспективним варіантом. Але, спираючись на додаткову підготовку (закупку) розчину для ін'єкції, а також притримування правильності дозування, що є доволі незручним для клієнта, відмовляємось від даної лікарської форми.

3.2.2. Обґрунтування вибору первинної і вторинної упаковки ногаломіцину

Найбільш поширеним представником одноразової упаковки є ампула. Ампули - це скляні ємкості різної місткості і форми, що складаються з розширеної частини - корпусу і капіляра (стебла). У фармацевтичній промисловості найбільш поширені ампули місткістю 1,2,3,5 і 10 мл; 20 і 50 мл - характерні для ветеринарії. Капіляри ампул можуть бути рівними або з перетиском. Найбільш раціональними є ампули з перетиском, оскільки рідина з ампули не може потрапити в капіляр, що важливо при запаюванні і розтині ампул. У нашій країні випускаються ампули для шприцевого і вакуумного наповнення [108].

До одноразових посудин відносять шприц-тюбик. Це тюбики з полімерних матеріалів з ін'єкційною голкою, захищеною ковпачком. Вони мають, як правило, спеціальне призначення і в різних країнах різну назву - цитола, майола, ампіна та ін [108].

Прикладом багатодозових посудин є флакони для інфузійних розчинів місткістю 50, 100, 250, 500 мл, виготовлені зі скла або полімерних матеріалів. Перспективними посудинами для інфузійних розчинів є гнучкі контейнери, виготовлені з полівінілхлориду (ПВХ) [108].



Рис.3.1. Приклади первинної упаковки [109-112]

Скляні ємкості для ін'єкційних розчинів виготовляють з медичного скла, яке являє собою розчин (сплав) силікатів оксидів металів і де-яких солей. Змінюючи склад компонентів та їх співвідношення, можна отримати скло із заданими властивостями [108].

Залежно від якісного і кількісного вмісту добавок, а також від набутих властивостей розрізняють 2 класи і декілька марок скла, що використовуються у виробництві ампул [108].

Із 1996 року в Україні виробляються ампули зі скла медичного марки УСП-1 (ТУ У 480945-002), що за водостійкістю відповідає класу 1/121. В ампулах не допускається внутрішня залишкова напруга, яка створює питому різницю ходу променів більше 8-1 млн, чужорідні включення, сколи, забруднення, що не відмиваються, і скляний пил. Ампули УСП-1 повинні бути термічно стійкими і витримувати перепад температур не менше 130 °С; хімічно стійкими - зміна рН води після обробки ампул у стерилізаторі не повинна перевищувати 0,8 [108].

Допускається виготовляти ампули з інших марок медичного скла, що не погіршують якість продукції. До першого класу відносять марки скла НС-3, НС-1,

до другого - НС-2, АБ-1. Виробництво ампул здійснюється на склозаводах зі скляних трубок (склодроту) вищенаведених класів і марок скла [108].

Всі типи ампул виготовляють із склодроту на роторних склоформувальних автоматах або напівавтоматах різних фірм 10-8 «ТУНГСРАМ» (Угорщина), «АМБЕГ», «МАТВЕР» (Німеччина). Не-доліком такого способу виготовлення ампул є утворення внутрішньої напруги, коли відбувається перерозподіл довжини зв'язків між моле-кулами у складі скла, що може призвести до механічного руйнування виробу або появи мікротріщин при несприятливих чинниках (висока температура, різка зміна температур, вібрація і т.д.), тому після виготовлення здійснюють зняття залишкової напруги за допомогою відпалювання ампул у спеціальних печах. Процес відпалювання полягає в нагріванні ампул або флаконів до температури, близької до температури розм'якшення скла, витримці їх при цій температурі протягом 7-10 хвилин і поступовому охолодженню [108].

До скла висуваються наступні вимоги [108]:

- прозорість – для візуального й оптичного контролю на відсутність механічних включень;
- безбарвність – дозволяє виявляти, окрім механічних включень, зміну кольору розчину;
- легкоплавкість – необхідна для якісного запаювання ампул при порівняно невисокій температурі, щоб уникнути нагрівання розчину;
- термічна стійкість -- здатність скляних виробів не руйнуватися при різких коливаннях температури;
- хімічна стійкість, що гарантує збереження лікарських речовин та інших компонентів препарату, показує здатність скла до вилужування;
- механічна міцність – для витримування навантажень при об-робці ампул у процесі виробництва, транспортування і збе-рігання. Ця вимога повинна поєднуватися з необхідною крихкістю для легкого розкриття капіляра ампул.

В пакування з ампулами укладають спеціальні пилкискарифікатори або на ампулі роблять невелике звуження або відзначають червоним або іншим

кольором смугу/крапку напруженого скла (з ділянкою більш крихкого скла). Іноземні фірми застосовують широкогорлі ампули з конічним переходом до капіляру і наносять неглибоку кільцеву канавку (поглиблення), яка служить для фіксації пілки при нанесенні риси або надрізу [113].

В останні роки знаходять застосування ампули, виготовлені з полімерних матеріалів (поліетилен, полівінілхлоридний пластикат, фторопласт, поліпропілен і т.д.). Їх переваги полягають насамперед у легкості, міцності, світлопроникності, широкій можливості використання для упаковок одноразового призначення. Але тут виникають проблеми, пов'язані із сумісністю полімерного матеріалу з розчином лікарської речовини і термінами придатності лікарського засобу [108,113].

Серед великого числа вживаних полімерів, проте, лише деякі витримують термічну стерилізацію без зміни своїх фізико-механічних властивостей. Ця обставина значною мірою стримує розповсюдження полімерів як матеріалів для упакування ін'єкційних розчинів. Основні вимоги до упаковок з полімерів [108]:

- безпека для здоров'я;
- достатня механічна міцність;
- можливість стерилізації в автоклаві;
- сумісність з лікарськими і допоміжними речовинами;
- зручність конструкції упаковок;
- непроникність для мікрофлори;
- постійність властивостей при температурних коливаннях у процесі зберігання;
- забезпечення стабільності і задовільна якість препаратів під час зберігання протягом двох років.

Обираємо звичайні скляні капсули, через їх зручність та дешевизну виготовлення, а також через вже сталу технологію створення лікарських препаратів у цій посудині. Полімери, крім великої кількості вимог, є лише в обмеженій кількості. Крім того – вони забруднюють навколишнє середовище.

Для вторинного пакування ампул використовують картонні коробки з кришкою, пачки, контурно-чарункове пакування. Для фіксації ампул в картонній тарі передбачені спеціальні вкладиші, в контурній тарі – осередки спеціальної форми. Для флаконів ін'єкційних розчинів використовують оснащення спеціальними пристроями для введення. Також поширеним є використання шприців дозаторів і картриджів [113].

Пакувальні матеріали служать для виготовлення тари й упаковки, а також для загортання, щільного укладання й амортизації з метою захисту продукції від ушкодження і втрат [114].

У зв'язку з розвитком синтезу нових пластичних мас особливого значення набули плівкові матеріали з полімерів. Серед них найбільш прогресивним є поліетилен, в якому вдало поєднується ряд фізико-хімічних властивостей із високими механічними показниками. Полівінілхлоридні плівки в комбінації з іншими матеріалами знаходять широке застосування для пакування лікарських засобів, особливо таблеток, драже, ампул у контурні коміркові упаковки. Дуже перспективними є багат шарові плівки з полімерів, алюмінієвої фольги і паперу [114].

Для групових і транспортних упаковок найбільше підходять термоусадочні плівки з поліетилену і сополімеру вініл- та вініліденхлориду. Не втрачають своєї актуальності різні види паперу, картону для виготовлення пакетів, коробок тощо [114].

Переваги полімерних плівок перед традиційними матеріалами (папером) для виготовлення тари й упаковки визначаються поєднанням таких властивостей, як мала маса, здатність до зварювання, високі фізико-механічні показники, можливість варіювання фізико-хімічних характеристик із метою забезпечення оптимальних для кожного виду препарату або іншого товару умов пакування і зберігання [114].

Оскільки для ампул існують вже автоматизовані лінії щодо звичайних картонних коробок. Тому, пропонується обрати саме цей класичний варіант, як мінімум через екологічність упаковки. Також, через цей факт пропонується

використовувати контурно-чарункове пакування, без використання додаткових пластикових вкладищів.

3.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання ногаломіцину

Загалом, типовими продуцентами антибіотиків антрациклінового ряду вважаються бактерії роду *Streptomyces*. Окрім цих мікроорганізмів до актиміцетів, які можуть синтезувати такі вторинні метаболіти відносять *Micromonospora*, *Kitasatospora*, *Nocardiosis*, *Pseudonocardia*, *Nocardia*, *Actinoplanes*, *Saccharopolyspora* та *Amocolatopsis*. Але, в першу чергу, цікавлять саме стрептоміцети, адже вони є доволі універсальними продуцентами, які виробляють найбільшу кількість антибіотиків з протипухлинною дією. Особливу увагу приділяють морським штамам цих бактерій [115,116].

Будемо розглядати біологічні агенти, які здатні синтезувати ногаломіцин, оскільки це наш основний цільовий антрациклін.

Таблиця 3.3

Порівняння різних продуцентів ногаломіцину

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Режим культивування	Концентрація антибіотику, мг/л	Література
<i>S. nogalater</i> NRRL 3035	Глюкоза – 5 Пептон – 5 М'ясний екстракт – 1,5 Дріжджовий екстракт – 1,5 NaCl – 5, KCl – 1, MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,25, Ca(NO ₃) ₂ – 0,164, MnCl ₂ ·H ₂ O – 0,014, FeSO ₄ – 0,152	96 год, 30 °C	120	[5]
<i>S. nogalater</i> ATCC27451	Манітол – 20, Порошок вівсянки – 40, Соевий порошок – 30, Пролін – 1, Гліцин – 1, Серин – 1, CaCO ₃ – 3	144 год, 28 °C, 220 об/хв	45	[117]
<i>S. nogalater</i> EI	Триптон – 17, Сойгон – 3, Глюкоза – 2,5, NaCl – 5, K ₂ HPO ₄ – 2,5	120 год, 28 °C, 220 об/хв	52	[118]

З таблиці очевидна перевага *S. nogalater* NRRL 3035, оскільки він виробляє найбільшу кількість антибіотику. Проте, варто зазначити велику відмінність що в часі культивування, що в складі поживних середовищ. Тому, для більш ретельного порівняння робимо перерахунок компонентів поживного середовища.

Таблиця 3.4

Розрахунок та порівняння вартості поживних середовищ для культивування біологічних агентів

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн/кг	Вартість компонента (грн) на 1 л середовища	Джерело інформації
<i>S. nogalater</i> NRRL 3035	Глюкоза – 5	19,4	0,097	1
	Пептон – 5	987,22	4,9361	2
	М'ясний екстракт – 1,5	600	0,9	3
	Дріжджовий екстракт – 1,5	92	0,138	4
	NaCl – 5	13	0,065	5
	KCl – 1	35,5	0,0355	6
	MgSO ₄ ·7H ₂ O – 0,25	21	0,0053	7
	Ca(NO ₃) ₂ – 0,164	42	0,0069	8
	MnCl ₂ ·H ₂ O – 0,014	185	0,0259	9
	FeSO ₄ – 0,152	4,3	0,0007	10
Вартість 1 л поживного середовища ≈ 5,31 грн				
<i>S. nogalater</i> ATCC27451	Манітол – 20	159	3,18	11
	Порошок вівсянки – 40	29	1,16	12
	Соевий порошок – 30	58	1,74	13
	Пролін – 1	1200	1,2	14
	Гліцин – 1	70	0,07	15
	Серин – 1	1380	1,38	16
	CaCO ₃ – 3	6	0,018	17
Вартість 1 л поживного середовища ≈ 8,75 грн				
<i>S. nogalater</i> EI	Триптон – 17	367,65	5,25	18
	Сойтон – 3	330,88	0,9926	19
	Глюкоза – 2,5	19,4	0,0485	1
	NaCl – 5	13	0,065	5
	K ₂ HPO ₄ – 2,5	141	0,3525	20
Вартість 1 л поживного середовища ≈ 6,71 грн				

Примітка (ціни наведено станом на грудень 2022): 1 - <https://prom.ua/p1026099461-glyukoza-pischevaya.html>, 2 - <https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html>, 3 - <https://analitica.com.ua/ua/p102765452-myasnoj-ekstraktsuhojrm003.html>, 4 - <https://russian.alibaba.com/p-detail/Yeast-62258786446.html?spm=a2700.8699010.29.21.2338a9abUVex2t>, 5 - <https://prom.ua/ua/p1543919812-sol-pischevaya-morskaya.html?&primelead=MC44NQ>, 6 - <https://prom.ua/ua/p1026101046-hlorid-kaliya-e508.html>, 7 - <https://prom.ua/ua/p818429845-sulfat-magniia-kitaj.html?&primelead=MS45>, 8 - <https://prom.ua/ua/p818430653-kaltsiyu-nitrat.html>, 9 - <https://tdchem.com.ua/product/%D0%BC%D0%B0%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%B5%D1%86-%D1%85%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%B8%D1%81%D1%82%D1%8B%D0%B9-%D1%85%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%B8%D0%B4-%D0%BC%D0%B0%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D1%86%D0%B0/>, 10 -

<https://prom.ua/p1716961049-zhelezo-sernokisloe-sulfat.html>, 11 - <https://prom.ua/p880146989-mannit.html?&primelead=M140>, 12 - <https://prom.ua/ua/p8550169-ovsyanyaya-muka-10kg.html>, 13 - <https://prom.ua/ua/p1033659165-soevaya-muka-poluzhirnaya.html>, 14 - <https://kreon-d.com.ua/ua/p692365821-prolin.html>, 15 - <https://kreon-d.com.ua/ua/p692347038-glitsin.html>, 16 - <https://soda.kiev.ua/ua/seryn.html>, 17 - <https://prom.ua/p1661248385-krejda-kormova.html>, 18 - <https://russian.alibaba.com/p-detail/Peptone-1600447868628.html?spm=a2700.8699010.29.16.678066c3HIALV6>, 19 - <https://russian.alibaba.com/product-detail/QYherb-Factory-Wholesales-Bulk-Peptone-Bacteriological-1600655980328.html>, 20 - <https://prom.ua/p271022187-kalij-monofosfat-monokalij.html?&primelead=MS4wNjI1>

З цієї таблиці також видно перевагу штаму *S. nogalater* NRRL 3035 як основного біологічного агента. Маємо зауважити, що розбіжність у вартості поживного середовища невисока, тому маємо визначити умовну вартість за 1 мг продукту кожного продуцента, тим самим остаточно визначивши найкращий мікроорганізм для біосинтезу ногаломіцину.

Таблиця 3.5

Узагальнені дані

Продуценти	<i>S. nogalater</i> NRRL 3035	<i>S. nogalater</i> ATCC27451	<i>S. nogalater</i> EI
Концентрація антибіотику, мг/л	120	45	52
Вартість 1 л середовища, грн	5,31	8,75	6,71
Умовна вартість цільового продукту, грн/мг	0,0443	0,1944	0,129
Тривалість культивування, год	96	144	120
Кількість утвореного антибіотику за годину, мг/год	1,25	0,3125	0,4333

З таблиці 3.6. можна зробити остаточно вибір на користь *S. nogalater* NRRL 3035, оскільки цей продуцент має найкращі показники по всім показникам. Вказаний біологічний агент має не лише найвищу концентрацію ногаломіцину, а ще й найдешевше середовище. Ці показники вплинули на умовну вартість продукту, яка складає трошки більше 4 копійок за кожен мг антибіотику. При цьому, кількість утвореного антрацикліну за 1 годину є найбільшою поміж усіх порівнянтів. Тому, залишаємо наш вибір на *S. nogalater* NRRL 3035.

3.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ногаломіцину та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції

За попередніми розрахунками визначена кількість хворих жінок на РМЗ та необхідна кількість ногаломіцину одній людині на проходження повного курсу терапії. Зважаючи на те, що препарат виготовляється вперше і що на ринку існує велика кількість конкурентів вже з відомими антираковими препаратами, пропонується забезпечувати 10% хворих. Отже, це буде становити:

$$17\,223 \times 0,1 = 1\,722 \text{ людини}$$

Необхідна кількість ногаломіцину на рік складає:

$$1\,722 \times 2,84 = 4\,890,5 \text{ г} \approx 4,9 \text{ кг}$$

Кількість культуральної рідини на рік становить:

$$\frac{4900}{0,12} \approx 41 \text{ м}^2$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні (до 25 %), необхідно отримати таку кількість культуральної рідини:

$$\frac{41}{1 - 0,25} = 55 \text{ м}^2$$

Приймаємо, що для отримання 55 м² культуральної рідини необхідно 100 робочих трудоднів (Т_{рд}). Відповідно кількість культуральної рідини на добу (V_д) становитиме:

$$V_{\text{д}} = V_{\text{кр}} / T_{\text{рд}} = 55 / 100 = 0,55$$

Розрахуємо кількість культуральної рідини за один цикл, (V_{крц}):

$$V_{\text{крц}} = K_1 \cdot V_{\text{д}} \cdot T_{\text{цф}} / 24 = 1,1 * 0,55 * 103 / 24 \approx 2,6 \text{ м}^3,$$

де T_{цф} - цикл роботи ферментера, який включає: мийку та огляд – 1,5 год, перевірку на герметичність – 0,5 год, підігрів та стерилізацію апарату – 1,5 год, охолодження ферментеру – 1 год, завантаження поживного середовища – 1,5 год, засів культурою – 0,5 год, ферментацію – 96 год, та вивантаження – 0,5 год, і становить 103 години. K₁ – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій (K₁ = 1,1).

Геометричний об'єм ферментера для отримання 2,6 м³ культуральної рідини, з коефіцієнтом заповнення 0,6 має становити:

$$V_{\text{г}} = V_{\text{цк}} / K_{\text{зап}} = 2,6 / 0,6 = 4,3 \text{ м}^3,$$

де K_{зап} – коефіцієнт заповнення ферментера.

Отже, вибираємо стандартний ферментер об'ємом $V_{\phi} = 5 \text{ м}^3$

Уточнюємо коефіцієнт заповнення:

$$K_{зф} = V_{цк} / V_{\phi} = 2,6 / 5 = 0,52$$

За виробничий цикл отримують $V_{кр} = 2,6 \text{ м}^3$ культуральної рідини.

Кількість поживного середовища та посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом з врахуванням втрат в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%) становитиме:

$$V_{роб.1} = V_{кр} / (1 - E_{\phi}) = 2,6 / (1 - 0,1) = 2,9 \text{ м}^3,$$

де E_{ϕ} – втрати культуральної рідини під час біосинтезу.

Виробничий біосинтез здійснюють у ферментері з робочим об'ємом $V_{роб.1} = 5 \text{ м}^3$.

При вибраному коефіцієнті заповнення $K_{зап} = 0,6$ можливий геометричний об'єм ферментера $V_{\phi.1} = 2,9 / 0,6 = 4,8 \text{ м}^3$. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний ферментер $V_{сф} = 5 \text{ м}^3$ та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.1} = V_{роб.1} / V_{сф} = 2,9 / 5 \approx 0,58$$

Уточнений коефіцієнт дозволяється для ферментерів з аерацією.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить 10% від об'єму поживного середовища. Тоді кількість поживного середовища у ферментері становитиме:

$$V_{пс1} = V_{роб.1} / (1 + X_{\phi}) = 2,9 / (1 + 0,1) \approx 2,64 \text{ м}^3$$

де X_{ϕ} – доза посівного матеріалу для ферментера.

Кількість посівного матеріалу для ферментера становить:

$$V_{пм1} = V_{роб.1} - V_{пс1} = 2,9 - 2,64 = 260 \text{ л}$$

Для одержання 260 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{роб.2} = V_{пм1} / (1 - E_{\phi}) = 260 / (1 - 0,1) \approx 288,9 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{ін} = 288,9/0,6=481,5$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{сін} = 500$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.2} = V_{роб.2} / V_{сін} = 288,9 / 500 = 0,58$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс2} = V_{роб.2} / (1 + X_{ін}) = 288,9 / (1 + 0,1) \approx 262,6 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм2} = V_{роб.2} - V_{пс2} = 288,9 - 262,6 \approx 26,3 \text{ л}$$

Для одержання 30 л інокуляту в інокуляторі враховуємо втрати в результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря (10%). Тоді кількість поживного середовища та посівного матеріалу в інокуляторі становить:

$$V_{роб.3} = V_{пм2} / (1 - E_{ф}) = 26,3 / (1 - 0,1) \approx 29,2 \text{ л}$$

Можливий геометричний об'єм інокулятора $V_{ін} = 29,2/0,6 \approx 48,7$ л. Приймаємо найближчий за об'ємом стандартний посівний апарат $V_{сін} = 50$ л та уточнюємо прийнятий раніше коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап.3} = V_{роб.3} / V_{сін} = 29,2 / 50 = 0,58$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у дозволених межах.

Кількість поживного середовища в інокуляторі становитиме:

$$V_{пс3} = V_{роб.3} / (1 + X_{ін}) = 29,2 / (1 + 0,1) \approx 26,6 \text{ л}$$

Тоді кількість посівного матеріалу для інокулятора становить:

$$V_{пм3} = V_{роб.3} - V_{пс3} = 29,2 - 26,6 = 2,6 \text{ л}$$

2,6 л посівного матеріалу ми можемо отримати використовуючи колби об'ємом 750 мл та коефіцієнтом заповнення $K_{зк} = 0,2$. Кількість колб становитиме:

$$N_{колб} = V_{пм3} / (V_{колб} \times K_{зап}) = 2600 / (750 \times 0,2) = 17 \text{ шт.}$$

Таким чином, для одержання посівного матеріалу необхідно 17 колб.

Отже, процес одержання посівного матеріалу для забезпечення виробничого культивування у ферментері об'ємом 5 м^3 з коефіцієнтом заповнення 0,6 буде проходити у 3 етапи.

РОЗДІЛ 4

ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

Підбір обладнання із врахуванням матеріальних потоків представлено в таблиці 4.1. Прорахунок вівся, спираючись на схему виділення та очистки ногаломіцину [119].

Таблиця 4.1.

Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях

№	Назва стадії (операції)	Матеріальні потоки на стадії	Кількість по стадіях			Необхідне обладнанн я
			Надійшло	Втрати , (Близь ко 25 %)	Вийшло	
1	2	3	4	5	6	7
1	Зберігання культуральної рідини	КР	2900 л	-	930 л	Збірник КР 3500 л
2	Фільтрування культуральної рідини	КР	2870 л (2900- 1% під час перелив ання)	-	2580 л фітрату	Промислов ий фільтр
		Діатоміт	135 кг	-	290 кг осаду	
3	Промивка осаду	Осад	290 кг	-	-	Осад на утилізацію
		Етилацетат	1740 л	-	1740 л	Збірник на 6000 л

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата						
Розроб.		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 4 ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ					
Перевір.		Стабніков В.П.						Лім.	Арк.	Аркушів
Реценз.									53	100
Н. Контр.								Кафедра БТМ		
Затверд.		Стабніков В.П.								

4	Екстракція фільтрату	Фільтрат	2580 л	-	6964	Екстрагований фільтрат на утилізацію
		Етилацетат	4900 л			
		Екстракт	-	1%	511 л	Збірник на 6000 л
5	Обробка етилацетатних екстрактів	Етилацетат з фільтратом	2251 л	-	4745 л	На утилізацію
		Етилацетат з осаду				
		1 N розчин соляної кислоти	3384 л			
		Екстракт	-	1%	886 л	Екстракт в збірник на 3000 л
6	Нейтралізація екстракту	Екстракт з соляною кислотою	886 л	-	900 л	Збірник на 3000 л
		50% розчин гідроксиду натрію	14 л			
7	Екстрагування нейтрального розчину етилацетатом	Нейтралізований розчин	900 л	-	910 л	На утилізацію
		Етилацетат	1380 л			
		Екстракт	-	1%	1356 л	Збірник на 1500 л
8	Випарювання екстракту	Екстракт	1380 л	-	1379 л	На утилізацію
		Масляний залишок	-	5%	0,8 кг	В тару на 2 л
9	Ресуспендування осаду	Осад	0,8 кг	-	1,64 л	Скляна тара на 2 л
		Метанол	840 мл			

Закінчення табл.4.1.

10	Зменшення загального об'єму	Екстракт	1,64	-	1,87 л	-
		Сульфат натрію	230 г	-		
		Випарена фракція	-	5%	500 мл	В реактор на 20 л
11	Кристалізація в метанолі	Суспензія з антибіотиком	500 мл	-	-	-
		Метанол	17,1 л			
		Кристали	-	5%	280 г	В тару на 0,5 л
12	Виділення кристалів центрифугуванням	Кристали	280 г	-	-	-
		Ногаломіцин кристалічний	-	3%	272 г	В тару на 0,5 л
13	Подрібнення	Ногаломіцин	272 г	1,5%	268 г	В переносну ємність
14	Пакування	Ногаломіцин	268 г	1,5%	264 г	В скляну тару

РОЗДІЛ 5

СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання продемонстровано в табл 5.1.

Таблиця 5.1.

Специфікація обладнання для виробництва ногаломіцину

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
3-1	Збірник для розчину соляної кислоти	1	Реактор на 4000 л WHGCM. Матеріал – нержавіюча сталь. Робочий тиск від 0,1 до 1 МПа. Швидкість мішалки до 1000 об/хв. Робоча температура до 350 °С. Габарити (в×d, мм): 3300×1200. Виробник: «WHGCM» (Китай) ¹
Н-2 Н-6 Н-13	Насос відцентровий	2	Насос відцентровий М-97-N PL. Продуктивність 3,3 м ³ . Корпус зроблений з нержавіючої сталі. Максимальний робочий тиск – 6 бар. Температура рідини, що перекачується: від -15 °С до +50 °С. Виробник: «SAER» (Італія) ²
3-3 3-18	Реактор для 50-% розчину гідроксиду натрію та кристалізації	2	Реактор на 20 л ROMM-20DJ. Реактор виготовлений з нержавіючої сталі. Оснащений мішалкою. Робоча температура від -20 °С до +200 °С. Робочий тиск – 3 бар. Габарити (в×d, мм): 800×300. Виробник: ГК “Тирит” (Росія) ³
Н-4	Насос перистальтичний	1	Перистальтичний насос MP-3035.6. Продуктивність 16 л/год. Робочий тис до 1,4 бар. Максимальна робоча температура 60 °С. Виробник: «DEBEM» (Італія) ⁴
3-5 3-12	Реактор для зберігання культуральної рідини Реактор для нейтралізації екстрактів		Реактор на 3000 л РСДП-3000 ВК. Оснащений подвійною сорочкою. Матеріал нержавіюча сталь AISI 316L. Є можливість змінювати мішалки. Швидкість мішалки від 15 до 56 об/хв. Габарити (в×d, мм): 3100×1250. Виробник: «ПРОМВІТ» (Україна) ⁵

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>		
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата			
Розроб.		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 5 СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ		
Перевір.		Стабніков В.П.					
Реценз.							
Н. Контр.							
Затверд.		Стабніков В.П.					
					Літ.	Арк.	Аркушів
					57	100	
					<i>Кафедра БТМ</i>		

Ф-7	Фільтр-прес	1	Промисловий фільтр-прес К1200. Кількість камер – 120 шт. Розмір тарілки – 1200 мм. Товщина плити – 40 мм. Робочий тиск до 0,8 бар. Продуктивність до 3 м ³ /год. Виробник: НИП ООО "Екофлок" (Україна) ⁶
3-8	Реактор для фільтрату	1	Реактор на 10000 л СВЕ 10000. Матеріал – нержавіюча сталь. Габарити (в×d, мм): 3400×2500. Максимальна швидкість мішалки 125 об/хв. Відповідає всім вимогам для застосування в фармацевтичному виробництві (FDA/GMP). Виробник: Suzhou CREAS Fluid Equipment Co., Ltd. (Китай) ⁷
Н-9 Н-11	Насос відцентровий	1	Насос відцентровий М-300В. Продуктивність 7 м ³ /год. Корпус зроблений з нержавіючої сталі та чугуну. Максимальний робочий тиск – 6 бар. Температура рідини, що перекачується: від -15 °С до +50 °С. Виробник: «SAER» (Італія) ⁸
3-10	Реактор для фільтрату після осаду	1	Реактор на 6300 л СВЕ 6300. Матеріал – нержавіюча сталь. Габарити (в×d, мм): 3270×2150. Максимальна швидкість мішалки 125 об/хв. Відповідає всім вимогам для застосування в фармацевтичному виробництві (FDA/GMP). Виробник: Suzhou CREAS Fluid Equipment Co., Ltd. (Китай) ⁷
3-14	Реактор для екстракції нейтралізату	1	Реактор на 1500 л KGR 1500. Оснащений рубашкою. Матеріал з нержавіючої сталі. Габарити (в×d, мм): 2260×1450. Загальна вага без привода 2700 кг. Відповідає всім вимогам для застосування в фармацевтичному виробництві (FDA/GMP). Виробник: Suzhou CREAS Fluid Equipment Co., Ltd. (Китай) ⁷
Н-15	Насос перистальтичний	1	Насос перистальтичний МР-1150-25. Продуктивність 1076 л/год. Вага 50 кг. Робочий тис до 8 бар. Максимальна робоча температура 80 °С. Виробник: «DEBEM» (Італія) ⁹
В-16	Вакуум-випарний апарат	1	Випарний апарат МЗС-320. Об'єм завантажування 1 м ³ . Робочий тиск сорочки 0,4 МПа. Кількість обертів мішалки 47 об/хв. Габарити (д×ш×в, мм): 1310×1310×3180. Виробник: МЗС (Україна) ¹⁰
В-17 В-19	Сушка лабораторна	2	Сушка VACUCCELL лабораторна. Об'єм камери 22 л. Робоча температура сушіння до 200 °С. Матеріал – нержавіюча сталь AISI 316 Ti. Виробник: «ВМТ» (Чехія) ¹¹
Ц-20	Центрифуга	1	Лабораторна центрифуга Ц-80-1. Частота обертання ротора до 3000 об/хв. Габарити (д×ш×в, мм): 330×280×270. Виробник: «Медика» (Україна) ¹²

М-21	Фармацевтичний млин	1	Фармацевтичний млин УФ3-1. Фракція подрібнення 60-595 мкм. Кількість оборотів 2840 об/хв. Габарити (д×ш×в, мм): 588×250×350. Виробник: «Чумаки в Китаї» (Китай) ¹³
------	------------------------	---	---

Примітка: 1 - https://www.alibaba.com/product-detail/4000l-Reactor-4000l-Hydrogenation-Reactor-4000l_1600564788645.html?spm=a2700.7724857.0.0.527b6128IX2kmr&s=p, 2 - <https://epicentrk.ua/ua/shop/mpic-nasos-vidtcentrovii-m-97-n-pl-0-55-kvt-3-3-m3-god-45-m-000015653-1ec51264-a0a8-6cbe-8aaa-9526be137514.html>, 3 - https://trit.org/reactor_him/romm.php, 4 - https://www.debem.com.ua/nasos/peristalticheskie_nasosy/mp-3/, 5 - <https://promoboz.com/ru/journal/2018/4-69-avgust/reaktor-rsdp-500-vk-dlya-proizvodstva-myagkih-lekarstvennyh-form-s-vynesennym-iz-korpusa-dispergatorom-i-konturom-tsirkulyatsii-produkta/>, 6 - <http://www.ecoflock.com.ua/Filytr-pres.html>, 7 - <https://res2.weblium.site/res/5bac9d274757460027eff3e7/5d57e7578630a9002323e252>, 8 - <https://vodonet.com.ua/ru/nasos-vidtcentrovii-m-300b-1-5-kvt-saer-7-m3-god-60-m-1>, 9 - https://www.debem.com.ua/nasos/peristalticheskie_nasosy/mp-11/, 10 - <https://tekonzavod.com.ua/ua/p1125249041-vakuum-vyparnoj-apparat.html>, 11 - <https://prom.ua/p255862261-laboratornaya-sushilka-vacucell.html?&primelead=MS4wMjU>, 12 - https://medistar.com.ua/p1236479984-tsentrifuga-laboratornaya.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA2rOeBhAsEiwA2PI7Q15MdSEkvgPhMR4ZRYUH5nwQf34JgKvBm4IqSRaITvrmkkzTtWXYZRoCmZgQAvD_BwE, 13 - <https://chumaki.in.ua/ua/p568659204-farmatsevticheskaya-melnitsa-yf3.html>

РОЗДІЛ 6

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НОГАЛОМІЦИНУ

Для опису технологічної схеми маємо передбачити ряд допоміжних розчинів, без яких не відбудеться належної очистки ногаломіцину. До таких речовин входить 1 н. розчин соляної кислоти, 50-% розчин гідроксиду натрію та 30-% розчин гідроксиду натрію. Розчини етилацетату та метанолу, а також діатоніг та сульфат натрію закупаються, а тому не потребують додаткової підготовки.

ДР 1. Приготування додаткових розчинів

ДР 1.1. Приготування розчину соляної кислоти

Для приготування 1 н. розчину соляної кислоти використовуємо 37-% розчин як сток. В 1 л 1 н. розчину має міститись близько 36,5 г кислоти. Для забезпечення очистки ногаломіцину необхідно приготувати близько 3,4 м³ соляної кислоти. Для цього. На ваговому дозаторі зважується 336 л соляної кислоти та переноситься в реактор (З-1) на 4 м³. Перед цим, в реактор наливають 3064 л питної води. Вмикають мішалку і перемішують розчин до повної гомогенізації.

ДР 1.2. Приготування 50-% розчину

Даний розчин буде додатково використовуватись для приготування 30-% розчину, тому маємо передбачити 14,5 л (пів літра на запас). Для цього, на ваговому дозаторі зважується 7,25 кг гідроксиду натрію. Наважка подається в реактор (З-3) до якого доливається 7,25 л питної води. Вмикається мішалка до повного ресуспендування розчину.

ТП 2. Зберігання культуральної рідини

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 6 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Стабніков В.П.					60	100
Реценз.						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Отриману культуральну рідину від ферментеру зберігають в збірнику (З-5) при температурі 4-8 °С для подальшої її обробки.

ТП 3. Фільтрування культуральної рідини

У промисловий фільтр (Ф-7) завантажується 135 кг діатоніту. Після чого, за допомогою відцентрового насосу подається 2,9 м³ культуральної рідини. Фільтрування триває протягом 2 годин. Фільтрат подається до збірнику на 10 м³.

ТП 4. Промивка осаду етилацетатом

До промислового фільтру (Ф-7) подають 1740 л етилацетату. Осад, що залишився промивають протягом 1 години. Одержану фракцію подають в інший збірник (З-10) на 6 м³.

ТП 5. Екстракція фільтрату етилацетатом

Оскільки об'єм фракції дуже великий, процес екстрагування будемо проводити в збірнику (З-8) на 10 м³. До фільтрату додають 4,9 м³ етилацетату. Витримують близько 3 годин. Нижню фракцію зливають у каналізацію, а верхню передають за допомогою перистальтичного насосу до збірнику (З-10) на 6 м³, де знаходиться фільтрат після осаду.

ТП 6. Обробка етилацетатних екстрактів

До збірника (З-10) на 6 м³ за допомогою вагового дозатора доливають 3384 л соляної кислоти (від ДР 1.1.). Розчин витримують близько 3 годин. Після чого, одержаний екстракт подається в збірник (З-12) на 3 м³. Інша фракція зливається в каналізацію.

ТП 7. Нейтралізація екстракту

До екстракту в збірник (З-12) на 3 м³ додається 50-% розчин гідроксиду натрію. Зі збірника (З-3) доливають 14 л даного розчину. Вмикається мішалка. Після повного перемішування на датчику рН перевіряється його рівень. Значення цього показнику має бути 7,0.

ТП 8. Екстрагування нейтрального розчину етилацетатом

До збірника (З-12) на 3 м³ додається за допомогою вагового дозатора доливається 1380 л етилацетату. Процес екстрагування триває близько 3 годин.

Після чого, одержаний екстракт подається в збірник (З-14) на 1,5 м³, а непотрібна фракція зливається в каналізацію.

ТП 9. Випаровування екстракту

Для зменшення об'єму є обов'язковий процес випаровування. Екстракт за допомогою перистальтичного насосу (Н-15) подається до вакуум-випарного апарату (В-16). Рідину випарюють до масляного залишку. Температура випарювання становить 80 °С і триватиме щонайменше 5 годин. Після повного випаровування, одержану масу вивантажують в ручну в ємність на 2 л.

ТП 10. Ресуспендування осаду

До одержаного масляного осаду, за допомогою мірного циліндру на 1 л доливають 840 мл метанолу. Суміш ресуспендують в ручну до повної гомогенізації.

ТП 11. Зменшення загального об'єму

До одержаного екстракту потрібно додати сульфат натрію. Його зважують на технічних вагах. Необхідно додати 230 г. Після повного перемішування, суспензію передають на упарювання в сушильний апарат (С-17). Розчин випаровують до 500 мл. Тривалість випаровування становить близько 2 годин при 80 °С.

ТП 12. Кристалізація в метанолі

До одержаної випареної суспензії в збірник (З-18) на 20 л доливають 17,2 л метанолу. Отриманий розчин віддають на конвективну сушарку (С-19). Встановлюється температура випаровування 195 °С. Тривалість даного процесу становить близько 12 годин.

ТП 13. Виділення кристалів центрифугуванням

Одержаний кристал поміщають у центрифугу (Ц-20). Встановлюється режим 3000 об/хв протягом 15 хвилин. Відокремлені кристали поддають на наступну стадію.

ТП 14. Подрібнення ногаломіцину

Для подрібнення використовують фармацевтичний млин (М-21). Даний процес виконують для зменшення розміру часточок препарату, який необхідно

розчинити. Тобто, дану дію ми виконуємо для того, щоб час розчинення порошку в ін'єкції був максимально мінімальним. Процес триватиме близько 20 хв.

ТП 15. Пакування ноголоміцину

Одержаний порошок поміщають в скляну тару на 500 мл, яка захищена від світла. Антибіотик бажано зберігати в прохолодному місці при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

РОЗДІЛ 7

КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ НОГАЛОМІЦИНУ

Перед тим, як кінцево перевірити якість одержаної субстанції, на виробництві антибіотику варто вести контроль під час процесу одержання. Варто звернути увагу насамперед на допоміжні розчини, які мають певну концентрацію.

Для вимірювання концентрації встановлюються спеціальні датчики – концентратоміри. Вимірювання концентрації ґрунтується на визначенні електропровідності розчинів і проводиться за допомогою кондуктивних або індуктивних датчиків (електродів). Функціонально промисловий концентратомір складається з двох блоків: вимірювального електрода та вторинного приладу, який здійснює функції індикації, регулювання та передачі даних. Конструктивно ці блоки можуть бути виконані в одному корпусі (компактне виконання) або мати рознесене виконання, коли електрод за допомогою спеціального кабелю підключається до вторинного приладу [120].

Для наших потреб вистачить концентратоміра типу КВЧ 5М. Основний його функціонал складає у вимірюванні електропровідності водних розчинів і пульп, а також концентрації кислот, солей і лугів у водних розчинах. Даний прилад дозволяє автоматизувати процес регенерації, при цьому економиться вода, витратні хімікати і вибирається оптимальний час регенерації фільтра [121].



Рис. 7.1. Концентратомір КВЧ 5М [121]

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ					
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>						
<i>Розроб.</i>		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 7 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ НОГАЛОМІЦИНУ					
<i>Перевір.</i>		Стабніков В.П.						<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Реценз.</i>									64	100
<i>Н. Контр.</i>								Кафедра БТМ		
<i>Затверд.</i>		Стабніков В.П.								

Кінцевою субстанцією виступає сухий порошок. Тож, потрібно перевірити вміст води, оскільки маємо справу з антибіотиком. Для таких цілей застосовують вологоміри.

У загальному випадку, вологомір - це сучасний і досить точний прилад, що дозволяє визначити процентний і кількісний вміст води в твердому або сипучому матеріалі, газі і т.д. Найпростіший метод визначення вологості – ваговий. Принцип ґрунтується на тому, що на початку береться зразок твердого або сипучого матеріалу, зважується, а потім примусово просушується. Різниця в масі початкового і висушеного зразка і вкаже на ступінь вологості [122].

Для потреб виробництва субстанції ногаломіцину достатньо буде аналізатора води RADWAG MA 50/1.R. Швидкість вимірювання води приладу варіюється від 5 до 20 хвилин. Має багатофункціональне значення, а тому застосовується в великій кількості різних галузей [123].



Рис.7.2. Аналізатор вологості RADWAG MA 50/1.R [123]

За сучасною документацією субстанція ногаломіцину контролюється за Державною фармакопеею України та статтями-монографіями. Показники субстанції, що контролюється, наведено в таблиці 7.1.

Контроль субстанції ногаломіцину

Найменування показників контролю	Встановлені значення	Методи контролю
1	2	3
Опис	Кристалічний порошок оранжево-червоного кольору. Гігроскопічний.	За п. 1, візуально
Розчинність	Розчинний у воді, метанолі.	За п. 2, ДФУ 2.9.3, доп. 1, вид. 1
Ідентифікація	Утворення білого осаду	За п. 3, ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1
Температура плавлення	195-196° С з розкладанням	За п. 4, ДФУ 2.2.14, вид. 1
pH	Від 4.0 до 5.5	За п. 5, ДФУ 2.2.3, вид. 1
Механічні включення	Мають бути відсутні	За п. 6, ДФУ 2.9.19, вид. 1
Супровідні домішки	На хроматограмі випробовуваного розчину площа будь-якого піка не має перевищувати площу піка ногаломіцину на хроматограмі розчину порівняння	За п. 7, ДФУ 2.2.29, вид. 1
Вода	Не більше 4.0 %	За п. 8, ДФУ 2.5.12, вип. 1
Депресорні речовини	Має витримувати випробування на депресорні речовини	За п. 9, ДФУ 2.6.11, вип. 1
Стерильність	Має витримувати випробування на стерильність	За п. 10, ДФУ 2.6.1, вип. 1
Зберігання	У стерильному повітронепроникному контейнері з контролем першого розкриття.	За п. 11, ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1
Маркування	У необхідних випадках зазначають: — субстанція стерильна; — субстанція вільна від бактеріальних ендотоксинів.	За п. 12, ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1

1. Опис

Кристалічний порошок оранжево-червоного кольору. Гігроскопічний. Визначають візуально

2. Розчинність

При додаванні *води Р* протягом 45 хвилин утвориться гомогенна завись червоного кольору. Визначають згідно ДФУ 2.9.3, доп. 1, вид. 1, візуально

Поміщають 300 мл води для розчинення у посудину, збирають прилад, нагрівають середовище розчинення до $(37.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ і видаляють термометр.

Поміщають одну капсулу в прилад з кошиком. Препарат поміщають у сухий кошик, який опускають у відповідне положення перед початком обертання.

Слід ужити заходів для недопущення наявності бульбашок повітря на поверхні препарату. Обертання лопаті або кошика із зазначеною швидкістю ($\pm 4\%$) починають негайно.

Неперервно здійснюють відбір 1 мл з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною кошика на відстані не ближче 10 мм від стінки посудини.

Відібрану рідину фільтрують, використовуючи інертний фільтр із відповідним розміром пор, який не викликає значної адсорбції активного компонента з розчину і не містить таких речовин, які екстрагуються середовищем розчинення і могли б впливати на результати зазначеного аналітичного методу. Аналіз фільтрату проводять методом, зазначеним в окремій статті.

Кількість діючої речовини, що розчинилася упродовж зазначеного часу, виражається у відсотках від вмісту, зазначеного у розділі "Склад".

3. Ідентифікація

Визначають згідно ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1

Близькою 1 мг субстанції розчиняють у 0.5 мл кислоти азотної, додають 0.5 мл води Р і нагрівають на полум'ї протягом 2 хв. Одержаний розчин витримують до охолодження і додають 0.5 мл розчину срібла нітрату Р1; утворюється білий осад.

4. Температура плавлення

Визначають згідно ДФУ 2.2.4, вид. 1

Тонко роздрібнену на порошок речовину сушать у над силікагелем безводним прятягом 24 год. Достатню кількість речовини поміщають у капілярну трубку до одержання згущеного стовпчика заввишки від 4 мм до 6 мм. Підвищують температуру бані до температури приблизно на 10 °С нижчу за передбачувану температуру плавлення (185-186 °С) і потім продовжують нагрівання із швидкістю близько 1°С за хвилину. Коли температура досягне значення на 5°С нижчого від передбачуваної температури плавлення, капілярну трубку поміщають у прилад. Капілярну трубу занурюють у баню так, щоб її запаяний кінець знаходився на рівні центра кульки термометра, позначка занурення якого знаходиться на рівні поверхні рідини. Відмічають температуру, за якої остання тверда частинка

перейде у рідку фазу.

5. рН

Значення рН має становити 4,0-5,0 одиниць. Визначають згідно ДФУ 2.2.3, вид. 1.

Вимірювальним приладом є вольтметр з вхідним опором принаймні у 100 разів більшим за опір N використовуваних електродів. Прилад звичайно градується в одиницях рН і повинен мати таку чутливість, щоб можна було виявити відмінність принаймні 0.05 одиниць рН або 0.003 В.

Усі виміри проводять при тій самій температурі в інтервалі від 20 °С до 25 °С. Прилад калібрують за допомогою буферного розчину калію гідрофталату і одного з буферних розчинів з іншим значенням рН. Показання приладу для третього буферного розчину з проміжним значенням рН не мають відрізнятись більш як на 0.05 одиниць рН від табличного значення рН цього розчину. Електроди занурюють у випробовуваний розчин і вимірюють рН у тих самих умовах, що і для буферних розчинів. Якщо прилад використовують часто, його калібрування проводять регулярно . У противному разі калібрування приладу має проводитися перед кожним виміром.

Усі випробовувані розчини і стандартні буферні розчини мають бути приготовані на воді, вільній від діоксиду вуглецю.

Приготування стандартних буферних розчинів

0.05 М розчин калію тетраоксалату. 12.61 г $K_2C_2O_4$, $2H_2O$ розчиняють у воді Рі доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 1000 мл .

0.05 М розчин калію гідрофталату. 10.3 г $KHC_8H_4O_4$, попередньо висушеного при температурі від 110 °С до 135 °С до постійної маси , розчиняють у воді Рі доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 1000 мл.

0,01 М розчин натрію тетраборату. 3.80 г $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ розчиняють у воді Рі доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 1000 мл . Зберігають, захищаючи від діоксиду вуглецю.

6. Механічні включення

Визначають згідно ДФУ 2.9.19, вид. 1

Для контролю використовують прилад, заснований на принципі світлоблокування, який дозволяє автоматично вимірювати кількість і розмір часток. Прилад калібрують, використовуючи дисперсійні зависі ФСЗ сферичних часток розміром від 5 мкм до 25 мкм. Стандартні частки дисперговані у воді, вільній від часток. Необхідно уникати агрегції часток дисперсійної фази.

Перемішують вміст зразка, повільно і безперервно перевертаючи контейнер п'ять разів. Якщо необхідно, обережно видаляють етикетки і ковпачки. Зовнішні поверхні контейнера, який розкривають, очищають струменем води, вільної від часток, Рі розкривають контейнер, уникаючи внесення будь-якого забруднення. Для видалення бульбашок повітря дають відстоятися розчину протягом 2 хв.

Відбирають чотири проби, не менше 5 мл кожна, і визначають кількість часток з розмірами, що дорівнюють або перевищують значення, зазначені у відповідному нормативному документі. Виключають результат, одержаний для першої проби, і обраховують середню кількість часток у випробовуваному зразку [106].

7. Супровідні домішки

Визначають згідно ДФУ 2.2.19, вид. 1

Обладнання звичайно складається з системи подавання рухомої фази, блока вводу проби (з використанням шприца або петлевого дозатора), хроматографічної колонки, детектора і реєструючого пристрою. Рухома фаза звичайно подається під тиском з однієї або декількох посудин і протікає через блок вводу проби, колонку, а потім через детектор із заданою швидкістю.

Температуру хроматографічної колонки підтримують постійною. Склад рухомої фази, залежно від зазначеного в окремій статті, може або залишатися постійним протягом всього аналізу (ізократичне елюювання), або може змінюватися відповідно до заданої програми (градієнтне елюювання). Використовуваний детектор має забезпечувати визначення тих кількостей аналізованих речовин, які елюються з колонки. Звичайно для детектування використовують абсорбційну спектрофотометрію; використовують також диференціальну рефрактометрію, флуориметрію, спалювання і електрохімічні методи.

Колонку врівноважують при зазначеному складі рухомої фази. Готують випробовуваний розчин і розчин(и) порівняння, як зазначено в окремій статті. Розчини не мають містити твердих часток. Використовуючи розчини порівняння, настраюють прилад і підбирають об'єми проб, що вводяться, які дозволяють одержати необхідний (адекватний) сигнал. Виконують повторні введення для перевірки збіжності сигналу і перевіряють, якщо необхідно, число теоретичних тарілок. Вводять розчини і реєструють результати хроматографування. Для перевірки збіжності сигналу виконують повторні введення. Визначають площі піків аналізованих компонентів. У випадку, якщо коефіцієнт симетрії, обчислений, як описано нижче, має значення від 0.8 до 1.20, допускається проводити визначення за висотою піків. При використанні градієнтного елюювання необхідно проводити визначення за площами піків. При використанні внутрішнього стандарту треба переконатися, що жоден з піків аналізованої речовини або його домішки не маскується піком внутрішнього стандарту. З

одержаних значень обчислюють вміст визначуваного компонента або компонентів.

Коефіцієнт симетрії піка може бути обчислений за формулою:

$$\frac{b_{0,05}}{2A}$$

де: $b_{0,05}$ - ширина піка на одній двадцятій висоти піка:

$2A$ - відстань між перпендикуляром, опущеним з максимуму піка, і передньою межею піка на одній двадцятій висоти піка.

8. Вода

Визначають згідно ДФУ 2.5.12, вид. 1.

Близько 10 мл метанолу безводного, поміщають у посудину для титрування і титрують йодсірчистим реактивом, визначаючи кінцеву точку титрування амперометрична. Потім швидко вносять у посудину для титрування зазначену кількість ногаломіцину і точно відміряний об'єм йодсірчистого реактиву Р, узятий з надлишком приблизно на 1 мл або об'єм, зазначений в окремій статті. Посудину закривають пробкою, витримують у захищеному від світла місці протягом 1 хв, періодично перемішуючи вміст посудини. Надлишок йодсірчистого реактиву Р титрують до початкового значення сили струму, використовуючи метанол безводний, до якого було додано точно відому кількість води, еквівалентну близько 2.5 г/л.

9. Депресорні речовини

Визначають згідно ДФУ 2.6.11, вип. 1

Випробування проводять на кішці, маса тіла якої не більше 2 кг, наркотизованій хлоралозою або барбітуратами для підтримання постійного кров'яного тиску. Випробування проводять за умовб які дозволяють запобігти зниженню температури тіла тварини і підтримувати її так, щоб ректальна температура зберігалася у фізіологічних межах . У трахею вводять дихальну трубку. У загальну сонну артерію уводять канюлю, заповнену гепаринізованим розчином 9 г/л натрію хлориду і сполучають її з пристроєм, що забезпечує тривалу реєстрацію кров'яного тиску. У стегнову вену вводять другу канюлю,

заповнену гепаринізованим розчин 9 г/л натрію хлориду, крізь яку можна вводити розчини гістаміну і випробовуваного зразка лікарського засобу.

Визначають чутливість тварин до гістаміну за допомогою внутрішньовенних ін'єкцій через рівні інтервали розчину гістаміну у дозах, відповідних 0,1 мкг і 0,15 мкг гістаміну основи на кілограм маси тіла. Повторюють меншу дозу не менше трьох разів. Другу і наступні ін'єкції вводять не раніш як через 1 хв після повернення кров'яного тиску до рівня, який був безпосередньо перед попередньою ін'єкцією. Тварину використовують у випробуванні лише в тому випадку, якщо одержано зниження кров'яного тиску, яке чітко реєструється, постійне для меншої дози, і якщо велика доза викликає більш високу реакцію.

Розчиняють випробовуваний зразок у достатній кількості розчину 9 г/л натрію хлориду. Вводять внутрішньовенно на кілограм маси тіла 1 мл розчину гістаміну, потім - дві послідовні ін'єкції розчину випробовуваного лікарського засобу в дозі, зазначеній в окремій статті, і, нарешті, 1 мл розчину гістаміну. Другу, третю і четверту ін'єкції роблять не раніш як через 1 хв після повернення кров'яного тиску до рівня, на якому він був безпосередньо перед попередньою ін'єкцією. Повторюють ці серії ін'єкцій двічі і завершують випробування уведенням 1,5 мл розчину гістаміну на кілограм маси тіла.

Випробування вважають не дійсним, якщо реакція на 1,5 мл розчину гістаміну не перевищує реакцію на 1 мл. Зразок не витримує випробування, якщо середнє значення реакцій на його введення вище за середнє значення реакцій на 1 мл розчину гістаміну на кілограм маси тіла або якщо будь-яка одна його доза викликала більш високу депресорну реакцію, ніж завершальна доза розчину гістаміну. Тварин не використовують повторно у випробуванні на депресорні речовини, якщо будь-яка одна його доза викликає більш високу депресорну реакцію, ніж завершальна доза розчину гістаміну, або якщо реакція на велику дозу гістаміну, введена після випробовуваного зразка, нижча за середню реакцію на менші дози попередньо уведеного гістаміну.

10. Стерильність

Визначають згідно ДФУ 2.6.1, вип. 1

Випробування на стерильність проводять за асептичних умов, використовуючи, наприклад, ламінар – бокс класу А, розташований у чистому приміщенні класу В або ізолятор. Заходи, що вживаються для попередження мікробного забруднення, не мають чинити впливу на мікроорганізми, які можуть бути виявлені у зразку в результаті випробування. Умови треба регулярно контролювати шляхом аналізу проб, відібраних відповідним чином у робочій зоні.

Для проведення випробування на стерильність можуть бути використані живильні середовища, наведені нижче. Тіогліколеве середовище призначене для вирощування анаеробних бактерій, однак може бути також використане для виділення аеробних бактерій. Соево-казеїнове середовище призначене для вирощування аеробних бактерій, а також може бути використане для виявлення грибів.

Тіогліколеве середовище (г/л)

Гідролізат казеїну - 15,00

Дріжджовий екстракт - 5,00

Глюкоза - 5,50

Натрію хлорид - 2,50

L-цистин - 0,50

Натрію тіогліколят - 0,50

Резазурін - 0,001

Агар-агар - 0,75

Кінцеве значення рН (при 25°C) $7,1 \pm 0,2$

Соево-казеїнове живильне середовище (г/л)

Панкреатичний гідролізат казеїну - 17

Папаїновий гідролізат соєвої муки - 3

Натрію хлорид - 5

Дикалію гідрофосфат – 2,5

Глюкози моногідрат – 2,5

Агар-агар - 0,75

pH після стерилізації 7.3 ± 0.2

Декілька чашок Петрі з живильним середовищем інкубують при наступних температурах: 30-35 °C для визначення бактерій, 20-25 °C для виявлення грибів. Визначення триває протягом 14 діб. Після закінчення періоду інкубації не має спостерігатися ріст мікроорганізмів.

11. Зберігання

Згідно ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1

У стерильному повітронепроникному контейнері з контролем першого розкриття.

12. Маркування

Згідно ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1

У необхідних випадках зазначають:

— субстанція стерильна;

— субстанція вільна від бактеріальних ендотоксинів.

РОЗДІЛ 8
ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ
ОДЕРЖАННЯ НОГАЛОМІЦИНУ

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

Попередньо в розділі 3 нами було розраховано кількість ногаломіцину в 1 ампулі, що становить 0,71 г препарату. Кількість людей, яку пропонується забезпечувати за нашими розрахунками становить 1722 людини. Для кожної людини на рік необхідно всього 4 ампули. Отже, кількість ампул становить:

$$1722 \times 4 = 6888 \text{ шт}$$

Річна кількість субстанції становить:

$$6888 \times 0,71 = 4891 \text{ г або } 4,9 \text{ кг}$$

Оптимальною кількістю ампул в упаковці для нашого препарату вийде по 5 ампул в пачці. Тож, річна кількість коробок становить

$$6888 \div 5 = 1378 \text{ шт}$$

За одну серію вихід становить близько 75 упаковок. Отже, кількість серій становить:

$$1378 \div 75 = 18 \text{ серій}$$

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

Оскільки виробництво ногаломіцину направлено на створення ін'єкційних препаратів в ампулах клас чистоти А є обов'язковою складовою для належної роботи. Клас А — локальна зона для операцій, при яких контамінація може становити високий ризик для якості продукції (зона дозування, закупорювання ємностей, відкривання ампул і флаконів, змішування в асептичних умовах). Такі умови забезпечуються ламінарним потоком повітря на робочому місці (рівномірна швидкість повітря 0,45 м/ с \pm 20%) [124].

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Дячина Ю.М.</i>			РОЗДІЛ 8 ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ НОГАЛОМІЦИНУ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Архивів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>					74	100
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Підготовка виробничих приміщень – одне з найважливіших заходів щодо забезпечення чистоти і зведення до мінімуму механічних і мікробних забруднень. Під санітарною підготовкою виробничих приміщень мають на увазі комплекс заходів, що складається з вологого прибирання, дезінфекції й УФ-опромінення, спрямований на досягнення відповідного класу чистоти. Прибирання виробничих приміщень слід проводити щодня, а генеральне прибирання — один раз у 5—6 днів або негайно на вимогу бактеріолога [125].

Дезінфекція приміщень і поверхонь обладнання приводить, як правило, до зниження мікроорганізмів на 40–60 % від їх початкового вмісту. При виборі дезінфікуючої речовини необхідно враховувати не тільки її бактерицидні властивості і спектр дії, але й можливу токсичність для людини. Рекомендується під час прибирання застосовувати 2–6 %-вий розчин водню пероксиду, 1 %-вий розчин дегміну, 0,5 %-вий розчин хлорогексидину біглюконату, розчини рецептури «С4» і «Стериліум» або інші спеціальні дезінфектанти і детергенти. Однак тривале використання якогось дезінфікуючого засобу призводить до утворення стійких штамів мікроорганізмів. Тому рекомендують дезінфікуючий засіб змінювати кожні 10—14 днів або застосовувати декілька типів [125].

Мийні та дезінфікуючі засоби, які використовуються в зонах А і В, мають бути стерильними, а для зниження мікробіологічної контамінації в недоступних місцях може бути використана фумігація «чистих» зон [125].

Приміщення з ламінарним потоком — це такі приміщення, в яких повітря подається в напрямку до робочої зони через фільтри, що займають усю стіну або стелю, і видаляється через поверхню, протилежну входіві повітря [131].

Для забезпечення необхідної чистоти повітря в системах «вертикальний ламінарний потік» і «горизонтальний ламінарний потік» у вітчизняній промисловості застосовують фільтрувальні установки, що складаються з фільтрів попередньої грубої очистки повітря та фільтра тонкої очистки [125].

У приміщеннях класу чистоти А/В слід носити стерильний брудний костюм або комбінезон, головний убір, бахіли, маску, гумові або пластикові рукавички. Якщо це можливо, то слід використовувати одноразовий або

спеціалізований технологічний одяг і взуття з мінімальним ворсовиділенням і пиломісткістю. Нижня частина штанів має бути захищеною всередину бахіл, а рукави — у рукавички. Головний убір повинен повністю закривати волосся і бути вставленим у комір костюма [125].

Важливе значення має тканина, з якої виготовляється техно-логічний одяг. Вона повинна мати мінімальні ворсовиділення, пиломісткість, пилепроникність, а також повітропроникність — не нижче $300\text{ м}^3/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, гігроскопічність — не менше 7 %, не накопичувати електростатичний заряд. За кордоном для технологічного одягу використовують тканини з поліестерних, поліпропіленових або поліалкідних волокон, у нас — тканину з лавсану і бавовни [125].

Багато важить і частота зміни одягу, що залежить від кліматичних умов і пори року. За наявності кондиційного повітря одяг рекомендується міняти не рідше 1 разу на день, а захисну маску — кожні 2 год. Гумові рукавички міняють після кожного контакту зі шкірою обличчя, а також у будь-якому разі, коли виникла небезпека їх забруднення [125].

До працівників у «чистих» зонах висуваються жорсткі вимоги відносно їх особистої гігієни та чистоти. У «чистих» приміщеннях забороняється носити наручні годинники, ювелірні вироби, косметику [125].

Весь персонал (включаючи зайнятих складанням і технічним обслуговуванням), працюючий у «чистих» зонах, має проходити систематичне навчання щодо правильного виробництва стерильних продуктів, гігієни й основ мікробіології [131].

8.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки

Ця стадія включає такі операції: розкриття капілярів, відпал ампул, їхнє миття, висушування та стерилізація [125].

Розкриття капілярів. Нині на заводах капіляри спарених ампул обрізають у процесі їх виготовлення на склоформуючих авто-матах, для цього застосовують спеціальні пристрої (приставки), що монтуються безпосередньо на автоматах або поруч із ними [125].

У момент розкриття каплярів ампул, як уже відзначалося раніше, відбувається засмоктування всередину скляного пілу, утвореного при розламуванні скла і механічних частинок із нав-колишнього повітря, що пов'язано з явищем розрідження всередині ампули. Для уникнення цього в машинах для різання ампул забезпечують їхній попередній підігрів, подають у зону різання чисте профільзоване повітря й установлюють в місці нанесення риски вузол обмивання капляра ампули фільтрованою знесоленою водою [125].

Виготовлені на склоформуєчих автоматах і набрані в касети ампули піддають відпалу для зняття внутрішніх напруг у склі, що утворюються через нерівномірний розподіл маси скла і нерівномірного охолодження ампул у процесі виготовлення. На-пруги, що виникають у склі, тим потужніші, чим більший пере-пад температури між зовнішнім і внутрішнім шарами скла при охолодженні. Таким чином, при різкому охолодженні напруги в зовнішньому шарі скла, що намагається скоротитись, можуть перевищити межу міцності, у склі виникнуть тріщини, і виріб зруйнується. Можливість виникнення мікротріщин у склі ампул підвищується і при тепловій стерилізації. Процес відпалу складається з таких стадій: нагрівання до температури, близької до розм'якшення скла, видержки при цій температурі і повільного охолодження [125].

Миття ампул є однією із самих від-повідальних стадій ампульного виробництва. Вона складається із зовнішнього і внутрішнього миття. Внутрішнє миття ампул здійснюють такими способами: вакуумним, ультразвуковим і віброультраузвуковим, термічним і шприцевим [125].

Найбільш поширений у вітчизняній технології — вакуумний спосіб миття. Суть цього способу полягає в тому, що касету з ампулами поміщають у герметично закритий апарат так, щоб капляри після наповнення апарата водою були занурені у воду, потім у ньому створюють і різко скидають вакуум. При утворенні вакууму повітря, що знаходиться в ампулах, відсмоктується і бульбашками виходить через водяний шар. У момент зняття вакууму вода із силою проникає всередину ампул, омиваючи її внутрішню поверхню, потім при повторному створенні вакууму вода із завис-лими в ній механічними домішками,

що раніше знаходились на стінках ампул, відсмоктується і зливається з апарата. Цикл повторюється багаторазово [125].

Після миття ампули досить швидко, щоб запобігти вторинному забрудненню, передаються на висушування або стерилізацію (за винятком тих способів миття, що містять у собі ці процеси) залежно від умов ампулування [125].

Висушування проводиться в спеціальних сушильних шафах при температурі 120—130 °С 15—20 хв. Якщо необхідна стерилізація, то обидві операції об'єднуються й ампули витримують у сухоповітряному стерилізаторі при 180 °С протягом 60 хв. Стерилізатор установлюють між двома приміщеннями так, щоб завантаження вимитих ампул проводилося в мийному відділенні, а розвантаження висушених або простерилізованих — у відділенні наповнення ампул розчином (у приміщенні більш вищого класу чистоти) [125].

8.4. Обґрунтування вибору підготовки води

Згідно з ФС 42-2620—89 вода для ін'єкцій (*Aqua pro injectionibus*) повинна задовольняти всі вимоги, висунуті до води очищеної, а також має бути стерильною й апірогенною. Стерильність і пірогенність води визначаються методами, викладеними в статтях «Стерильність», «Пірогени» ДФУ. Вода для ін'єкцій повинна бути вільною від механічних видимих включень, які визначають відповідно до РД 42У-001—93 [125].

У промислових умовах одержання води для ін'єкцій і води очищеної здійснюють за допомогою високопродуктивних корпусних апаратів, термокомпресійних дистиляторів різних конструкцій і установок зворотного осмосу [125].

Найчастіше застосовуються триступінчасті колонні апарати з трьома корпусами (випарниками), розташованими вертикально або горизонтально. Особливістю колонних апаратів є те, що тільки перший випарник нагрівається паром, вторинна пара з першого корпусу надходить у другий як нагрівник, де конденсується й утворюється вода очищена. З другого корпусу вторинна пара

надходить у третій як нагрівник, де також конденсується. Таким чином, воду очищену одержують з другого й третього корпусів [125].

Для забезпечення апірогенності отримуваної води необхідно створити умови, які запобігають потраплянню пірогенних речовин у дистилат. Ці речовини нелеткі і не переганяються з водяною парою. Забруднення ними дистилату відбувається перекиданням крапельок води або виносом їх струменем пари в холодильник. Тому конструктивним вирішенням питання підвищення якості дистилату є застосування дистиляційних апаратів відповідних конструкцій, в яких виключена можливість перекидання крапельно-рідкої фази через конденсатор у збірник. Це досягається улаштуванням спеціальних пасток і відбивачів, високим розташуванням паропроводів відносно поверхні паротворення. Доцільно також регулювати обігрів випарника, забезпечуючи рівномірне кипіння й оптимальну швидкість паротворення, тому що надмірне нагрівання веде до бурхливого кипіння і перекидання крапельної фази. Проведення водопідготовки знесолюванням також зменшує піноутворення і, отже, виділення крапельок води в парову фазу [125].

8.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання

Обов'язковими додатковими роботами можна визначити підготовку вентиляційного повітря та підготовку води очищеної.

Для повітря маємо передбачити велику систему видалення контамінантів. Для цього, після охолодження повітря встановлюється система фільтрів, яка доводить стан повітря до потрібної кондиції.

Першим з цих фільтрів виступає фільтр тонкого очищення. Для цього пропонується обрати HEPA фільтр класу чистоти H14. Матеріал такого фільтру зазвичай представляє скловолокно. Робоча температура до 280 °С. Також, варто відмітити можливість створення фільтрів такого типу на замовлення [126].

Після HEPA фільтру пропонується встановити ULPA фільтр. Відокремлювачі такого типу видаляють пил, пилок, плісняву, бактерії та частинки у повітрі розміром більше 0,12 мкм. Ступінь чистоти пропонується обрати за

класом U16. Фільтри складаються з мініплісованого скловолокнистого фільтруючого матеріалу [127].

Для одержання води очищеної спочатку необхідно передбачити 2 фільтри – піщаний та вугільний. Пропонується обрати промисловий HDPE піщаний фільтр для пом'якшення води. Продукція повністю відповідає ISO9001. Важливо відмітити виконання резервуару у будь-якому матеріалі та розмірі [128].

Фільтр вугільний – спеціальний пристрій, всередині якого розташована очищає субстанція. Складається з активованого вугілля з шкаралупи кокоса. За рахунок цього фільтр вугільний для води вважається екологічно безпечним приладом і схвалений як медиками, так і мікробіологами. Найкращу ефективність показують вугільні фільтри для води з сорбентом діаметром до 0.004 мкм. Вони затримують найдрібніші частинки, роблячи воду максимально чистою і прозорою [129].

Оскільки пропонується закуповувати вже готові ампули, перші 2 стадії підготовки можна пропустити. Тоді, за технологічною схемою підготовка ампул розпочинається з їх миття, сушіння та стерилізації. Для таких цілей вже існують готові автоматизовані лінії, тому обирати окремі апарати для кожної операції не є необхідним. Для наших потреб вистачить автоматизованої машини МУ-2, яка обробляє до 20 ампул за 1 хвилину. До її функціоналу також входять наповнення, та запайка ампул, що дозволяє ще легше виконувати критерії стерильності, які є дуже важливими в нашому випадку [130].



Рис.8.1. Автоматична установка для ампул МУ-2 [130]

Як етикувальну машину пропонується обрати лінію від компанії VKPAK. Продуктивність даної машини можна налагоджувати, від 0 до 220 ампул за 1 хв. Також, перевагою даного апарату є можливість застосування різноманітних етикеток [131].



Рис.8.2. Етикувальна машина від VKPAK [131]

Пакувальна лінія JDZ-260P дозволяє спакувати ампули одразу в лотки та у вторинну упаковку, що значно полегшує процес. Даний апарат має макисмальну продуктивність в 220 коробок за хвилину [132].



Рис.8.3. Пакувальна машина JDZ-260P [132]

РОЗДІЛ 9

СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ ОДЕРЖАННІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Специфікацію обладнання, зображеного на апаратурній схемі (див. *графічна частина*), наведено у табл. 9.1.

Таблиця 9.1.

Специфікація ділянки виробництва лікарського засоба ногаломіцину

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика
1	2	3	4
ПЗ - 1	Повірозабірник	1	Обладнаний металефою сіткою для видалення механічних забруднень.
Ф- 2	Фільтр грубої очистки повітря	1	Фільтр грубої очистки G4. Тип: кишеньковий. Розмір: 592мм x 592мм. Виробник: «Alter Air» (Україна) ¹
К- 3	Компресор	1	Компресор повітряний Dnipro-M AC-9NL. Потужність двигуна – 0,55 кВт. Продуктивність – до 110 л/хв. Виробник: «Dnipro-M» (Україна) ²
Т-4	Теплообмінник-охолоджувач	1	Теплообмінник DRAIN 2000K. Потужність двигуна – 0,5 кВт. Продуктивність – до 22,5 л/хв. Виробник: «EMMEGI» (Італія) ³
Ф-5	Фільтр тонкого очищення	1	Фільтр тонкої очистки класу H14. Розмір: 592мм x 592мм. Фільтруючий матеріал: мікроскловолокно. Ступінь очищення – більше 99,995%. Робоча температура до 100 °С. Виробник: "Технофільтр" (Україна) ⁴
Ф-6	Фільтр надефективного очищення	1	Фільтр ФяС-У класу U16. Фільтруючий матеріал: мікроскловолокно. Робоча температура до 80 °С. Ступінь очищення – більше 99,9999%. Виробник: "Фолтер-Україна" (Україна) ⁵
Ф-7	Піщаний фільтр	1	Піщаний фільтр. Продуктивність – 237 л/год. Резервуар оснащений нержавіючою сталлю. Виробник: «Huayu Factory» (Китай) ⁶
Ф-8	Фільтр вугільний	1	Вугільний фільтр Ecosoft FPA1054CT. Продуктивність – 0,6 м ³ /год. Розмір: 260 x 1580 мм. Робочий тиск – 3,5 бар. Виробник: «Ecosoft» (Україна) ⁷
З-9 З-13	Збірник на 250 л	2	Збірник на 250 л. Матеріал – нержавіюча сталь AISI 316. Робочий тиск до 3 бар. Оснащений мішалкою та подвійною рубашкою. Виробник: «Промвіт» (Україна) ⁸

НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ

Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата
Розроб.		Дячина Ю.М.		
Перевір.		Стабніков В.П.		
Реценз.				
Н. Контр.				
Затверд.		Стабніков В.П.		

РОЗДІЛ 9
СПЕЦИФІКАЦІЯ
ОБЛАДНАННЯ ОДЕРЖАННІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Літ.	Арк.	Аркушів
	83	100

Кафедра БТМ

Закінчення табл.9.1

Н-10 Н-14 Н-16	Насос перистальтичний	3	Насос перистальтичний МР-6118.12. Продуктивність – 226 л/год. Тиск до 1,4 бар. Потужність двигуна 0,09 кВт. Виробник: «DEBEM» (Італія) ⁹
Ф-11	Фільтр для пом'якшення води	1	Фільтр Atlas Filtri Jupiter 50 AVL 1. Продуктивність системи до 2,1-2,5 м3/год. Виробник: «Atlas Filtri» (Італія) ¹⁰
УФ-12	Установка зворотнього осмосу	1	Установка зворотнього осмосу ECOSOFT MO 6500. Продуктивність – 250-1000 л/год. Матеріал корпусу – нержавіюча сталь AISI 304. Пори фільтрелементу – 1 мкм. Виробник: «ECOSOFT» (Україна) ¹¹
3-15	Реактор на 20 л	1	Реактор на 20 л ROMM-20DJ. Реактор виготовлений з нержавіючої сталі. Оснащений мішалкою. Робоча температура від -20 °С до +200 °С. Робочий тиск – 3 бар. Габарити (в×д, мм): 800×300. Виробник: ГК «Тирит» (Росія) ¹⁸
А-17	Автоматична лінія для миття, сушки, стерилізації, наповнення, запайки ампул	1	Устаткування для миття, сушіння, наповнення та запаювання ампул МУ-2. Продуктивність до 20 ампул/хв. Температура стерилізації до 350 °С. Точність наповнення ±1%. Виробник: «Shanghai Marua» (Китай) ¹²
С-18	Стерилізатор прохідного типу	1	Паровий стерилізатор автоклав ГПО-630. Об'єм камери 635 літрів. Максимальна температура стерилізацій 250 °С. Виробник: «Uoslab» (Україна) ¹³
І-19	Інспекційна машина для ампул	1	Інспекційна машина для ампул і флаконів BOSCH KLD 1041. Автоматизована лінія з контролем 4 точок. Виробник: «Bosch» (Німеччина) ¹⁴
Е-20	Етикувальна машина	1	VKPAK машина для горизонтального етикетування циліндричних флаконів та вкладання їх в лоток. Автоматизована лінія. Габарити (д×ш×в, мм): 1600×500×1550. Виробник: «VKPAK» (Китай) ¹⁵
ПМ-21	Пакувальна та маркувальна машина	1	JDZ-260P Автоматична машина для пакування ампул та флаконів. Продуктивність – до 260 упаковок. Габарити (д×ш×в, мм): 4800×1600×1860. Виробник: «Hunan Grand Packing Machinery Co., Ltd» (Китай) ¹⁶
ГП - 22	Автомат групової упаковки	1	Автомат для групової упаковки в картони BOX 20КТ. Максимальна продуктивність – 20 коробів за хв. Виробник: «Nomatech» (Чехія) ¹⁷

Примітка: 1 - <https://shop.alterair.ua/product/pocket-filter-g-class/>, 2 - <https://dnipro-m.ua/tovar/kompressor-vozdushnyj-ac-9nl/>, 3 - https://motorimpex.ua/files/downloads/luft_oel_drain.pdf, 4 - <https://tehnofilter.ub.ua/goods/view/6364274/all/filtr-tonkogo-ochishchennya-povityrya-ftov-nera-hepa/>, 5 - <https://folter.com.ua/catalog/fyasul5u16>, 6 - <https://uk.hytank-export.com/water-softening-frp-tank/industrial-hdpe-sand-filter-water-softening-frp-tank>, 7 - <https://www.aquanova.com.ua/ua/ugolnyj-filtr/>

, 8 - <https://promvit.com.ua/reaktor-250-l-2/>, 9 - <https://pumpcentre.com.ua/peristalticheskij-nasos-mp-611812/>,
10 - <https://vencon.ua/ua/products/atlas-filtri-jupiter-50-avl-1-nea1000029>, 11 - <https://aqua-life.ua/ua/product/ustanovka-obratnogo-osmosa-ecosoft-mo-6500/>,
12 - <https://www.marya.com.cn/product/Ampoule-Liquid-Filling-Sealing-Production-Line-212.html>, 13 - <https://uoslab.com/sushylne-obladnannia/sterylizatory/sterylizatory-serii-gpo/steril%D1%96zator-pov%D1%96tryanij-gpo-630-proh%D1%96dnogo-tipu>,
14 - <https://intimac.it/poderzannye-masiny/ecbda8/-bosch-kld-1041/>, 15 - <https://www.vkpak.com/ampoule-labeling-machine.html>, 16 - <https://www.grand-packing.com/automatic-horizontal-cartoning-machine-for-ampoule.html>, 17 - <https://gvp.com.ua/avtomat-dlya-gruppovoy-upakovki-v-kartonnuyu-taru-box-20kt-nomatech>, 18 - https://tirit.org/reactor_him/romm.php

РОЗДІЛ 10

ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ІН'ЄКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ НОГАЛОМІЦИНУ

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1 Підготовка мийних та дезинфікувальних засобів

ДР 1.1.1 Приготування мийного 0,5% розчину каустичної соди

Готується 0,5% робочий розчин каустичної соди. Для цього у переносну ємність, об'ємом 10 л, вносять 50 г зазначеної речовини та додають 10 л води.

ДР 1.1.2 Приготування дезинфікувальних розчинів Дегміну

Для щоденного прибирання потрібна кількість робочого розчину 0,5% дегміну становить 20 л. Для цього у переносну ємність об'ємом 30 л вносять 100 г препарату, додають 20 л питної води та перемішують до повного розчинення.

За генерального прибирання приміщень необхідна кількість розчину становить 25 л. Для приготування однієї порції мийного розчину у переносну емальовану ємність вносять 125 г дегміну, додають 25 л питної води та перемішують до повного розчинення.

ДР 1.2 Підготовка виробничих приміщень

ДР 1.2.1 Щоденне прибирання

Щодня після закінчення зміни необхідно провести прибирання розчином від ДР 1.1.2. Потрібно перевірити приміщення на відсутність пилу та бруду.

ДР 1.2.2 Генеральне прибирання

Генеральне прибирання виконують по закінченню циклу виробництва, використовуючи розчин від ДР 1.1.2. Окремо перевіряється показник мікробного обнасення поверхонь, значення КУО має бути меншим за 1000.

ДР 1.3 Підготовка обладнання та комунікацій

ДР 1.3.1 Миття та ополіскування обладнання

					НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Лист</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		Дячина Ю.М.			РОЗДІЛ 10 ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ОДЕРЖАННЯ ІН'ЄКЦІЙНОГО ПРЕПАРАТУ НОГАЛОМІЦИНУ	<i>Лім.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		Стабніков В.П.					86	100
<i>Реценз.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		Стабніков В.П.						

Мийна рідина використовується для очищення обладнання та комунікацій (з ДР. 1.1.1). Технологія СІР використовуються для миття. Робоча рідина подається насосом, а обладнання очищається за встановленим способом очищення: промивання тривалістю 15 хвилин, очищення розчином 30 хвилин, ополіскування 15 хвилин. Промивна рідина використовується повторно для очищення наступного обладнання.

ДР 1.3.2 Технічний огляд

Після миття та ополіскування резервуарного устаткування його ретельно перевіряють на наявність негерметичності комунікацій та запірної арматури на обладнанні. При їх виявленні різьбові з'єднання підтягуються.

ДР 1.3.3 Перевірка обладнання на герметичність

Перекрити всі запірні крани накопичувача і накачують повітря до рівня надлишкового тиску $P = 0,1-0,2$ МПа. Потім закривають кран подачі повітря і записують в оперативний журнал показання манометра на кришці приладу і час витримки (30-60 хв). Пристрій вважається герметичним, якщо перепад тиску не перевищує 0,01 МПа.

ДР 1.3.4 Стерилізація обладнання

Розігрів приладу. Зверху в сорочку апарату подається пара і обладнання нагрівається до температури 80-90°C.

Стерилізація. Вся запірна арматура відкрита і подається гаряча пара. При досягненні в апараті температури стерилізації 130-135 °С закривають усі штуцери, крім парових, і витримують 1,5 години (тиск 0,15 МПа).

Охолодження. Закриваються всі вентилі, які перекривають подачу пари до пристрою. Потім в сорочку подають холодну воду. Процес проводять до досягнення температури 30-40°C.

ДР 1.4 Підготовка персоналу

Навчання персоналу, а також санітарно-гігієнічне навчання проводяться у формі навчання правилам користування дезінфікуючими засобами для рук, мийним інвентарем, приміщеннями тощо.

ДР 2. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 2.1. Забір повітря

Забір повітря передбачається в найменш забрудненому місці. Свіже повітря засмоктується вентилятором через решітку на фасаді (ПЗ-1).

ДР 2.2. Грубе очищення повітря

Повітря надходить у фільтр грубої очистки. З повітря відділяється основна маса пилу розміром 3-5 мікрон. Для очищення використовують роликові фільтри з промасленою сіткою (Ф-2). Ефективність очищення повітря становить понад 90%.

ДР 2.3. Компресування повітря

На цьому етапі використовуються турбокомпресори, в яких повітря стискається відцентровою силою. Стиснення повітря супроводжується його нагріванням до температури 90-100 °С (К-3). Тому потім повітря надходить в кондиціонер для регулювання термодинамічних показників.

ДР 2.4. Регуляція термодинамічних показників повітря

Повітря надходить в кондиціонер (Т-4), де охолоджується до кімнатної температури. Волога конденсується з повітря. Відпрацьоване повітря подається в систему фільтрації, що складається з фільтрів тонкого і ультратонкого очищення.

ДР 2.5. Тонке очищення повітря

Тонке очищення повітря здійснюється за допомогою гофрованих стільникових фільтрів (Ф-5). Ефективність очищення повітря цими фільтрами становить понад 99,995%. Фільтр тонкого очищення замінюють, коли він стає забрудненим.

ДР 2.6. Надефективне очищення повітря

На цьому етапі використовуються фільтри НЕРА (Ф-6), які видаляють з повітря частинки розміром до 0,3 мікрона. Ефективність очищення повітря такими фільтрами становить понад 99,9999%.

ДР 3. Приготування води очищеної

ДР 3.1. Механічна фільтрація

Очищення водопровідної води від механічних домішок здійснюється на піщаних фільтрах (Ф-7), які забезпечують видалення більших частинок розміром 5 мкм.

ДР 3.2. Глибинна фільтрація

На цьому етапі вода очищається від механічних домішок розміром 1-3 мкм. Цей процес відбувається на вугільних фільтрах (Ф-8), які працюють паралельно або по черзі.

ДР 3.3. Пом'якшення води

Пом'якшення води здійснюється методом відстоювання. Іони кальцію та магнію перетворюються на важкорозчинні сполуки шляхом додавання у воду розрахункових кількостей гідрату оксиду кальцію, каустичної соди та кристалічного карбонату натрію (З-9). Після кількох годин взаємодії накопують сполук із зазначеними реагентами утворюються осади, які потім видаляють відстоюванням або фільтрацією (Ф-11). Для фільтрації можна використовувати піщані фільтри.

ДР 3.4. Зворотній осмос

Потім отриману воду пропускають через напівпроникну мембрану під впливом зовнішнього тиску. Робочий надлишковий тиск розчину солі значно перевищує осмотичний тиск. Зворотньоосмотична установка зазвичай складається з насоса високого тиску, пермеатора (мембранної установки) і блоку управління, що підтримує оптимальний режим роботи (УФ-12). В оптимальних установках вихід пермеату становить близько 75% вихідної води, утвореного концентрату – 25%.

ДР 3.5. Зберігання води очищеної

З установки, отримання води очищеної (УФ-12), вода очищена поступає в ємкість (З-13), де зберігається при температурі $58 \pm 3^\circ\text{C}$. З ємкості вода очищена розподіляється за допомогою насоса (Н-14).

ДР 4. Підготовка розчину для наповнення

До одержаного ноголоміцину у розмірі 264 в асептичних умовах до реактора на 20 л (З-15) досипають 167,3 хімічно чистого хлориду натрію,

доливають 1,8 л 37-% соляної кислоти та доливають 16,6 л води очищеної. Все перемішують та передають на стадію заповнення ампул.

ДР 5. Підготовка ампул

ДР 5.1. Миття ампул

Ампули, отримані зі складу, спочатку візуально перевіряються. Під час перевірки ампули, які не перебувають у рідкому стані, викидаються. Решту ампул поміщають на лоток у підготовлену автоматичну лінію підготовки ампул (А-17).

Гвинтовий конвеєр машини безперервно збирає ампули з лотка і передає їх на горизонтальний барабан з блістерами. Ампули занурюють у гарячу водяну баню з ультразвуковим пристроєм для промивання зовнішніх і внутрішніх поверхонь ампул водою при температурі 60 ± 5 °С.

Потім ампули переносяться в пральну машину, де чиста вода, відфільтрована через вбудований фільтр, тричі впорскується через голку.

Очищені ампули поміщають у дренажний бункер пральної машини, звідки вони потрапляють у тунель для сушіння та стерилізації.

ДР 5.2. Сушка і стерилізація ампул

Очищені ампули потрапляють у сушильно-стерилізаційний тунель, де вони висушуються і стерилізуються при температурі 320°С протягом 30 хвилин. На виході ампули охолоджують на повітрі до 20-25 °С. Чисті та сухі ампули виймаються з тунелю і подаються на стрічку машини для наповнення та запаювання ампул.

ТП 6. Наповнення та запайка ампул

Дозуючий насос і голка для наповнення розбираються, промиваються водою для ін'єкцій, поміщаються в медичний стерилізатор і стерилізуються в автоклаві при 120°С, 0,11 МПа протягом 45 хвилин.

Стерильний дозуючий насос під'єднують до стерильної силіконової трубки, збирають та встановлюють в розливно-дозуючу машину (А-17). Пристрій для збору розчину (3-15) під'єднують до силіконової всмоктувальної трубки, відкривають клапан за допомогою пристрою для збору розчину, після чого вмикають машину.

Чисті та сухі ампули подаються на вісім пунктів очищення азотом, потім на п'ять пунктів наповнення розчином, п'ять пунктів наповнення азотом і п'ять пунктів запаювання ампул. Розчин антибіотику подається до вищезазначених п'яти точок розливу розчину за допомогою машини для розливу та дозування.

Після заповнення ампули запаюються в потоці азоту. Інтенсивність полум'я регулюється клапанами подачі газу та кисню. Потім перевіряється якість герметизації. Під час процесу герметизації контролюється тиск газу (0,01-0,07 МПа), кисню (0,01-0,07 МПа) і азоту (0,3 МПа).

Заповнені та запаєні ампули збирають в касети та відправляються на стерилізацію разом з відповідними ідентифікаційними картками.

ТП 7. Стерилізація та перевірка ампул з розчином на герметичність і контроль на механічні включення

ТП 7.1. Стерилізація ампул з розчином

Заповнені та запаєні картриджі з ампулами поміщали на візок і поміщали в стерилізатор (С-18). Ампули стерилізували при температурі $110 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ протягом 60 хвилин. Після завершення програми стерилізації активується програма перевірки ампул на герметичність.

У стерилізаційній камері створювався вакуум 0,053-0,04 МПа. У стерилізаційну камеру через дозатор подавали концентрований метиленовий синій, що входить до складу стерилізаційного набору. Концентрат подається в стерилізаційну камеру з розрахунку концентрації 0,005 % розчину метиленового синього. Стерилізаційна камера заповнюється до країв за допомогою подачі очищеної води з насоса (Н-14). Після відстоювання протягом 3-5 хвилин використаний 0,005% розчин метиленового синього зливається самопливом у вихлопну систему.

Потім у стерилізатор подається деіонізована вода з резервуара рекуперації для миття ампул (С-13). Після очищення ампул вода зливається у вихлопну систему.

Після перевірки герметичності ампул відбирають проби для визначення рН розчину, вмісту глюконату кальцію, стерильності препарату, токсичності та

пірогенності. Протягом періоду аналізу ампули зберігалися в карантинному сховищі або на карантинній станції в оригінальних лікарських умовах. Картриджі з ампулами відправляються до ТП 7.2 з відповідними ідентифікаційними картками для перевірки на наявність механічних включень.

ТП 7.2. Контроль на механічні включення

Контроль здійснюють на автоматизованій лінії інспекторської машини перевірки ампул І-19 за 4 контрольними точками. Ампули, що пройшли контроль, збирають у лотки з відповідною ідентифікаційною картою і направляють на стадію на ПМВ 8.

ПМВ 8. Маркування та пакування

ПМВ 8.1. Маркування ампул

Ампули злоткавручноподаються в бункер Е-20. Коли стрічка етикеток проходить через друкарський пристрій, на етикетці друкується номер партії та термін придатності. Машина автоматично маркує ампули та пакує їх у пластикові лотки.

ПМВ 8.2. Пакування ампул в пачку

Налагоджується машина для виробництва та наповнення гофротари ПМ-21 відповідно до інструкції з експлуатації.

Завантажується пакунок та кладуться листи-вкладиші в приймальний пристрій. Присвоюється формульованому механізму машини набір чисел, що складається з номера партії та терміну придатності. Повинен бути передбачений ніж для відкриття ампули або скарифкатор. Коробки з ампулами транспортуються конвеєром до штампувальної машини.

ПМВ 8.3. Пакування пачок з ампулами в групову упаковку

Поміщаються порожні коробки в машину (ГП-22) і вмикається живлення. Ящики з упаковкою конвеєром подаються на пакувальний стіл. Коробки заклеюються скотчем і наклеюються групові етикетки. Номер партії та термін придатності наносяться вручну.

При отриманні позитивних результатів вимогам АНД та відповідності всіх результатів аналізу досьє серії, оформляється сертифікат якості та дозвіл на

реалізацію. Потім усі партії продукції позначаються зеленою карткою "Дозволено до реалізації". Готова продукція передається на склад тимчасового зберігання та відправляється споживачам.

РОЗДІЛ 11

ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД НОГАЛОМІЦИН

Ця аналітично нормативна документація поширюється на медичний препарат Ногаломіцин, який являє собою концентрат, який містить ногаломіцин як діючу речовину.

Склад:

Діючі речовини:

5 мл розчину містить 71 мг ногаломіцину

Допоміжні речовини:

Натрію хлорид

Розчин кислоти хлористоводневої 0,1 М

Вода для ін'єкцій

Фармакологічна дія.

Фармакодинаміка.

Ногаломіцин – цитотоксичний антрацикліновий антибіотик, виділений із культури *Streptomyces nogalater*.

Точний механізм дії остаточно не з'ясований. Припускається, що ногаломіцин виявляє свій протипухлинний ефект через цитотоксичні механізми дії, особливо шляхом інтеркаляції ДНК, пригнічення ферменту топоізомерази II, а також утворення активних форм кисню (АФК). Всі вони мають шкідливий вплив на синтез ДНК: інтеркаляція молекули ногаломіцину призводить до пригнічення РНК і ДНК-полімерази шляхом порушення розпізнавання основ і специфічності послідовностей. Пригнічення топоізомерази II спричиняє одно- і дволанцюгові розриви спіралі ДНК. Розщеплення ДНК також виникає внаслідок хімічної реакції з високоактивними формами кисню, такими як гідроксильний

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.02 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 11 ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Дячина Ю.М.					94	100
Перевір.		Стабніков В.П.						96
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

Фармакокінетика.

Розподіл. Після внутрішньовенного введення ногаломіцин швидко виводиться з крові і широко розповсюджується по тканинах, включаючи легені, печінку, серце, селезінку, лімфатичні вузли, кістковий мозок та нирки. Об'єм розподілу становить приблизно 25 л/кг. Ступінь зв'язування з білками плазми крові становить 60-70 %.

Ногаломіцин не проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, хоча за наявності метастазів головного мозку або лейкозної церебральної дисемінації у лікворі можуть досягатися більш високі рівні препарату. Ногаломіцин швидко поширюється в асцит, де він досягає більш високих концентрацій, ніж у плазмі. Ногаломіцин виділяється у грудне молоко.

Виведення. Виведення ногаломіцин з крові є трифазним із періодами напіввиведення в 12 хвилин (розподіл), 3,3 години та 30 годин. Ногаломіцин піддається швидкому метаболізму в печінці. Приблизно 40-50 дози виділяється з жовчю протягом 7 днів, з яких приблизно половина виводиться з організму у вигляді незміненого лікарського засобу, а решта - у вигляді метаболітів. Тільки 5-15 % введеної дози виводиться із сечею.

Особливі групи пацієнтів. Оскільки виведення ногаломіцину здійснюється в основному через печінку, дисфункція печінки призводить до уповільненої екскреції, а отже, до збільшення утримання та накопичення в плазмі крові і тканинах.

Хоча ниркова екскреція є другорядним шляхом виведення для ногаломіцину, тяжка ниркова недостатність може впливати на повне виведення.

У дослідженні серед пацієнтів з надмірною масою тіла (>130 % від ідеальної маси тіла) кліренс ногаломіцину був скорочений, а період напіврозпаду збільшувався порівняно з контрольною групою пацієнтів з нормальною масою тіла.

СПЕЦИФІКАЦІЯ

Ногаломіцин

Найменування показників контролю	Встановлені значення	Методи контролю
1	2	3
Опис	Прозорий розчин червоного кольору	За п. 1 АНД, візуально
Ідентифікація	Утворення білого осаду	За п. 2 АНД, ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1
Прозорість	Прозора	За п. 3 АНД, ДФУ 2.2.1, вид. 1
Кольоровість	Червоне забарвлення	За п. 4 АНД, ДФУ 2.2.2, вид. 1
pH	5,0-5,5	За п. 5 АНД, ДФУ 2.2.3, вид. 1
Супровідні домішки	На хроматограмі випробовуваного розчину площа будь-якого піка не має перевищувати площу піка ногаломіцину на хроматограмі розчину порівняння	За п. 6 АНД, ДФУ 2.2.29, вид. 1
Однорідність дозованих одиниць	Препарат має в середньому містити 85 - 115 % дозованості одиниці	За п. 7 АНД
Об'єм, що витягається	5 мл	За п. 8 АНД, ДФУ 2.9.17, вид. 1
Стерильність	Має витримувати випробування на стерильність	За п. 9 АНД, ДФУ 2.6.1, вип. 1

1	2	3
Бактеріальні ендотоксини	Менше 2,2 МО/мг	За п. 10 АНД, ДФУ 2.6.14, вип. 1
Аномальна токсичність	Має витримувати випробування на аномальну токсичність	За п. 11 АНД, ДФУ 2.6.9, вип. 1
Механічні включення	Мають бути відсутні	За п. 12 АНД, ДФУ 2.9.19, вид. 1
Кількісне визначення	Порівняння піків на хроматограмі	За п. 13 АНД, ДФУ 2.2.29, вид. 1

Методи контролю

Ногаломіцин

1. Опис

Прозорий розчин червоного кольору. Визначають візуально.

2. Ідентифікація

Аналогічно п. 3 розділу 7 (див. вище), ДФУ, монографія «Ногаломіцин» доп. 1, вид. 1

3. Прозорість

Для визначення прозорості і ступеня каламутності рідин використовують однакові пробірки з безбарвного прозорого нейтрального скла з плоским дном, що мають внутрішній діаметр від 15 мм до 25 мм. 40-мм шар випробовуваної рідини порівнюють із 40-мм шаром свіжоприготованого, як описано нижче, еталона. Порівняння рідин проводять у розсіяному денному світлі через 5 хв після приготування еталона, переглядаючи зразки вздовж вертикальної осі пробірок на чорному фоні. Розсіяння світла має бути таким, щоб еталон I легко відрізнявся від води, а еталон II легко відрізнявся від еталона I.

Випробовувану рідину вважають прозорою, якщо вона витримує порівняння з водою.

	Еталон (мл)			
	I	II	III	IV
Основна суспензія	5	10	30	50
Вода	95	90	70	50

4. Кольоровість

Визначають згідно з ДФУ 2.2.2. вип 1.

2.0 мл випробовуваної рідини порівнюють з 2.0 мл води, використовуючи однакові пробірки з безбарвного прозорого нейтрального скла з зовнішнім діаметром 12 мм . Порівняння забарвлення проводять у розсіяному денному світлі, переглядаючи зразки горизонтально (перпендикулярно вісі пробірок) на білому фоні.

5. рН

Аналогічно п. 5 АНД, ДФУ 2.2.3, вид. 1

6. Однорідність дозованих одиниць

Використовуючи підходу аналітичну методику, визначають вміст діючої речовини в кожній з 10 дозованих одиниць лікарського засобу, відібраних за статистично обгрунтованою схемою.

Препарат витримує випробування, якщо вміст у кожній його однодозовій одиниці перебуває в межах 85 - 115 % від середнього вмісту. Препарат не витримує випробування, якщо вміст у більш як одній одиниці виходить за вищезазначені межі або якщо вміст хоча б в одній одиниці виходить за межі 75 - 125 % від середнього вмісту. Якщо вміст в одній одиниці препарату виходить за межі 85 - 115 %, але перебуває у межах 75 - 125 %, визначають вміст у кожній з 20 додаткових однодозових одиниць препарату, відібраних за статистично обгрунтованою схемою. Препарат витримує випробування, якщо вміст не більш як в одній з проаналізованих 30 одиниць виходить за межі 85 - 115 % і в жодній одиниці не виходить за межі 75 - 125 % від середнього вмісту.

7. Супровідні домішки

Аналогічно п. 7 розділу 7 (див. вище), ДФУ 2.2.29, вид. 1

8. Об'єм, що витягається

Визначають згідно з ДФУ 2.9.17. вип 1.

Відбирають один флакон. Переносять вміст у сухий мірний циліндр такої місткості, щоб визначуваний об'єм заповнив не менше 40 % номінального об'єму циліндра. Вимірюють об'єм, що витягається. Об'єм, що витягається, має бути не меншим за номінальний об'єм зазначений на флаконі.

9. Стерильність

Аналогічно п. 10 розділу 7 (див. вище), ДФУ 2.6.1, вип. 1

10. Бактеріальні ендотоксини

Визначають згідно з ДФУ 2.6.14. вип 1.

Об'єм лізату, відповідний вибраній посудині (наприклад, пробірці або предметному склу), поміщають у кожену з необхідної кількості таких посуду, зберігаються при температурі (37 ± 1) °С. Через певні проміжки часу, що дозволяють урахувати кожний результат, додають у кожену посудину рівні об'єми випробовуваного розчину і негайно обережно змішують із лізатом. Інкують суміш, не допускаючи вібрації і зводячи до мінімуму втрату води при випаровування протягом постійного інтервалу часу, вибраному у передньому експерименті (звичайно – від 60 хв), і враховують результати. Позитивним результатом вважають утворення стійкого гелю, що не руйнується при обережному перевертанні посудини. Якщо такий гель не утворюється, результат вважають негативним.

11. Аномальна токсичність

Визначають згідно з ДФУ 2.6.9. вип 1.

Кількість випробовуваного лікарського засобу, зазначено в окремій статті. розчинену в 0.5 мл води для ін'єкцій або у стерильному розчині 9 г/л натрію хлориду. Вводять внутрішньовенно кожній із п'яти здорових мишей масою від 17 г до 22 г. Розчин вводять протягом інтервалу часу від 15 с до 30 с. якщо немає інших зазначень в окремій статті. Зразок витримує випробування, якщо жодна з мишей не гине в межах 24 год або протягом часу, зазначеного в окремій статті. Якщо більш як одна тварина гине, зразок не проходить випробування. У випадку

загибелі однієї тварини випробування повторюють. Зразок витримує випробування, якщо жодна з тварин у другій групі не гине в межах зазначеного інтервалу часу.

12. Механічні включення

Аналогічно п. 6 розділу 7 (див. вище), ДФУ 2.9.19, вид. 1

13. Кількісне визначення

Методика відповідно до п. 7 розділу 7 (див. вище), ДФУ 2.2.29, вид. 1

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. McGowan J. V., Chung R., Maulik A., Piotrowska I., Walker J. M., Yellon D. M. Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity. *Cardiovascular drugs and therapy*. 2017, 31(1): 63-75. doi: 10.1007/s10557-016-6711-0.
2. van Dalen E. C., Raphael M. F., Caron H. N., Kremer L. C. Treatment including anthracyclines versus treatment not including anthracyclines for childhood cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2014, (9): CD006647. doi: 10.1002/14651858.CD006647.pub4.
3. Di Nardo P., Rossi S., Schinzari G., Cerchiaro E., Cassano A. Real benefit of anthracycline-based chemotherapy in elderly and impaired patients: a retrospective analysis. *J Integr Oncol*. 2015, 4(143): 2. doi: 10.4172/2329-6771.1000143.
4. Hilaj E., Ymeri A., Shpati K. P. The Impact of Adding Taxanes to Anthracyclines on Women with Breast Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy. *Cureus*. 2020, 12(2): e71117. doi: 10.7759 / cureus.7117.
5. Maki K., Coe M., Brown K., Tran J., Sohn M., Nybo S. E. Combined use of design of experiments and metabolic engineering for optimization of nogalamycin production. *bioRxiv*. 2019: 804179. doi: 10.1101/804179.
6. Szafraniec E., Majzner K., Farhane Z., Byrne H. J., Lukawska M., Oszczapowicz I., et al. Spectroscopic studies of anthracyclines: structural characterization and in vitro tracking. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2016, 169: 152-160. doi: 10.1016/j.saa.2016.06.035
7. Pollap A., Kochana J. Electrochemical immunosensors for antibiotic detection. *Biosensors*. 2019, 9(2): 61. doi: 10.3390/bios9020061
8. Mele D., Tocchetti C. G., Pagliaro P., Madonna R., Novo G., Pepe A., Spallarossa P. Pathophysiology of anthracycline cardiotoxicity. *Journal of Cardiovascular Medicine*. 2016, 17(1): S3-S11. doi: 10.2459/JCM.0000000000000378
9. Mele D., Nardoza M., Spallarossa P., Frassoldati A., Tocchetti C. G., Cadeddu C. Current views on anthracycline cardiotoxicity. *Heart failure reviews*. 2016, 21(5): 621-634. doi: 10.1007/s10741-016-9564-5

10. Brown K. V., Wandt B. N., Metsa-Ketela M., Nybo S. E. Pathway engineering of anthracyclines: Blazing trails in natural product glycodiversification. *The Journal of Organic Chemistry*. 2020, 85(19): 12012-12023. doi: 10.1021/acs.joc.0c01863.
11. Han A. R., Park J. W., Lee M. K., Ban Y. H., Yoo Y. J., Kim E. J., Yoon Y. J. Development of a *Streptomyces venezuelae*-based combinatorial biosynthetic system for the production of glycosylated derivatives of doxorubicin and its biosynthetic intermediates. *Applied and environmental microbiology*. 2011, 77(14): 4912-4923. doi: 10.1128/AEM.02527-10.
12. Kostylev M., Otwell A. E., Richardson R. E., Suzuki Y. Cloning should be simple: *Escherichia coli* DH5 α -mediated assembly of multiple DNA fragments with short end homologies. *PloS one*. 2015, 10(9): e0137466. doi: 10.1371/journal.pone.0137466.
13. Lee N. R., Rimal H., Lee J. H., Oh T. J. Characterization of dephosphocoenzyme A kinase from *Streptomyces peucetius* ATCC27952, and its application for doxorubicin overproduction. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2014, 24(9): 1238-1244. doi: 10.4014/jmb.1404.04053.
14. Song E., Malla S., Yang Y. H., Lee K., Kim E. J., Lee H. C., et al. Proteomic approach to enhance doxorubicin production in *panK*-integrated *Streptomyces peucetius* ATCC 27952. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011, 38(9): 1245-1253. doi: 10.1007/s10295-010-0903-6.
15. Pokhrel A. R., Chaudhary A. K., Nguyen H. T., Dhakal D., Le T. T., Shrestha A., et al. Overexpression of a pathway specific negative regulator enhances production of daunorubicin in *bldA* deficient *Streptomyces peucetius* ATCC 27952. *Microbiological research*. 2016, 192: 96-102. doi: 10.1016/j.micres.2016.06.009.
16. Yuan T., Yin C., Zhu C., Zhu B., Hu Y. Improvement of antibiotic productivity by knock-out of *dauW* in *Streptomyces coeruleobidus*. *Microbiological research*. 2011, 166(7): 539-547. doi:10.1016/j.micres.2010.10.006.
17. Shao L., Chen J. Y., Zi J. C., Chen D. J. Enhance 4'-epidaunorubicin production of engineering *Streptomyces coeruleorubidus* strains via both knockout of

daunorubicin-consuming enzymes *dnrX* and *dnrU*, and multiple copies of rate-limiting enzyme aveBIV. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2018, 93(12): 3613-3618. doi: 10.1002/jctb.574.

18. Wei J., He L., Niu G. Regulation of antibiotic biosynthesis in actinomycetes: perspectives and challenges. *Synthetic and systems biotechnology*. 2018, 3(4): 229-235. doi: 10.1016/j.synbio.2018.10.005.

19. Yuan T., Xie L., Zhu B., Hu Y. Bioconversion of deoxysugar moieties to the biosynthetic intermediates of daunorubicin in an engineered strain of *Streptomyces coeruleobidus*. *Biotechnology letters*. 2014, 36(9): 1809-1818. doi: 10.1007/s10529-014-1542-1.

20. Xia H., Zhan X., Mao X. M., Li Y. Q. The regulatory cascades of antibiotic production in *Streptomyces*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2020, 36(1): 1-9. doi: 10.1007/s11274-019-2789-4.

21. Chaudhary A. K., Singh B., Maharjan S., Jha A. K., Kim B. G., Sohng J. K. Switching antibiotics production on and off in actinomycetes by an *IclR* family transcriptional regulator from *Streptomyces peucetius* ATCC 27952. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2014, 24(8): 1065-1072. doi: 10.4014/jmb.1403.03026.

22. Lu F., Hou Y., Zhang H., Chu Y., Xia H., Tian Y. Regulatory genes and their roles for improvement of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *3 Biotech*. 2017, 7(4): 1-15. doi: 10.1007/s13205-017-0875-6.

23. Karuppasamy K., Srinivasan P., Ashokkumar B., Tiwari R., Kanagarajadurai K., Prasad R. Partial loss of self-resistance to daunorubicin in *drrD* mutant of *Streptomyces peucetius*. *Biochemical Engineering Journal*. 2015, 102: 98-107. doi: 10.1016/j.bej.2015.02.017.

24. Olano C., Méndez C., Salas J. A. Molecular insights on the biosynthesis of antitumour compounds by actinomycetes. *Microbial biotechnology*. 2011, 4(2): 144-164. doi: 10.1111/j.1751-7915.2010.00231.x.

25. Pokhrel A. R., Nguyen H. T., Dhakal D., Chaudhary A. K., Sohng J. K. Implication of orphan histidine kinase (*OhkAsp*) in biosynthesis of doxorubicin and

daunorubicin in *Streptomyces peucetius* ATCC 27952. *Microbiological research*. 2018, 214: 37-46. doi: 10.1016/j.micres.2018.05.007.

26. Wang X., Tian X., Wu Y., Shen X., Yang S., Chen S. Enhanced doxorubicin production by *Streptomyces peucetius* using a combination of classical strain mutation and medium optimization. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 2018, 48(6): 514-521. doi: 10.1080/10826068.2018.1466156.

27. Siitonen V., Blauenburg B., Kallio P., Mäntsälä P., Metsä-Ketelä M. Discovery of a two-component monooxygenase *SnoaW/SnoaL2* involved in nogalamycin biosynthesis. *Chemistry & biology*. 2012, 19(5): 638-646. doi: 10.1016/j.chembiol.2012.04.009.

28. Nji Wandu B., Siitonen V., Dinis P., Vukic V., Salminen T. A., Metsä-Ketelä M. Evolution-guided engineering of non-heme iron enzymes involved in nogalamycin biosynthesis. *The FEBS Journal*. 2020, 287(14): 2998-3011. doi: 10.1111/febs.15192.

29. Siitonen V., Nji Wandu B., Törmänen A. P., Metsä-Ketelä M. Enzymatic Synthesis of the C-glycosidic Moiety of Nogalamycin R. *ACS chemical biology*. 2018, 13(9): 2433-2437. doi: 10.1021/acscchembio.8b00658.

30. Zabala D., Braña A. F., Salas J. A., Méndez C. Increasing antibiotic production yields by favoring the biosynthesis of precursor metabolites glucose-1-phosphate and/or malonyl-CoA in *Streptomyces* producer strains. *The Journal of antibiotics*. 2016, 69(3): 179-182. doi: 10.1038/ja.2015.104.

31. 23 Kim E., Song M. C., Kim M. S., Beom J. Y., Jung J. A., Cho H. S., Yoon Y. J. One-pot combinatorial biosynthesis of glycosylated anthracyclines by cocultivation of *Streptomyces* strains producing aglycones and nucleotide deoxysugars. *ACS combinatorial science*. 2017, 19(4): 262-270. doi: 10.1021/acscmbosci.6b00194.

32. 24 Supong K., Sriprechasak P., Phongsopitanun W., Tanasupawat S., Danwisetkanjana K., Bunbamrung N., Pittayakhajonwut P. Antimicrobial substances from the rare actinomycete *Nonomuraea rhodomycinica* NR4-ASC07T. *Natural product research*. 2019, 33(16): 2285-2291. doi: 10.1080/14786419.2018.1440223.

33. Hashimoto M., Katsura H., Kato R., Kawaide H., Natsume M. Effect of pamamycin-607 on secondary metabolite production by *Streptomyces* spp. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2011, 75(9): 1722-1726. doi: 10.1271/bbb.110251.
34. Li W., Yang X., Yang Y., Zhao L., Xu L., Ding Z. A new anthracycline from endophytic *Streptomyces* sp. YIM66403. *The Journal of antibiotics*. 2015, 68(3): 216-219. doi:10.1038/ja.2014.128.
35. Park J. W., Nam S. J., Yoon Y. J. Enabling techniques in the search for new antibiotics: combinatorial biosynthesis of sugar-containing antibiotics. *Biochemical pharmacology*. 2017, 134: 56-73. doi: 10.1016/j.bcp.2016.10.009.
36. Vasanthakumar A., Kattusamy K., Prasad R. Regulation of daunorubicin biosynthesis in *Streptomyces peucetius*—feed forward and feedback transcriptional control. *Journal of basic microbiology*. 2013, 53(8): 636-644. doi: 10.1002/jobm.201200302.
37. Nguyen H. T., Pokhrel A. R., Nguyen C. T., Dhakal D., Lim H. N., Jung H. J., et al. *Streptomyces* sp. VN1, a producer of diverse metabolites including non-natural furan-type anticancer compound. *Scientific reports*. 2020, 10(1): 1-14. doi: 10.1038/s41598-020-58623-1.
38. Pandey R. P., Parajuli P., Lee J. H., Sohng J. K. In vitro Glucosylation of ϵ -rhodomycinone. *J. Biomolecule Reconstruction*. 2013, 10 (1): 52-57.
39. Holkar S., Begde D., Nashikkar N., Kadam T., Upadhyay A. Rhodomycin analogues from *Streptomyces purpurascens*: isolation, characterization and biological activities. *SpringerPlus*. 2013, 2(1): 1-13. doi: 86/2193-1801-2-93.
40. Thuan N. H., Sohng J. K. Recent biotechnological progress in enzymatic synthesis of glycosides. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2013, 40(12): 1329-1356. doi: 10.1007/s10295-013-1332-0.
41. Fu J., Zhong C., Zhao Z., Zong G., Cao G. Complete genome sequence of a natural compounds producer, *Streptomyces violaceus* S21. *Genomics data*. 2017, 12: 116-117. doi: 10.1016/j.gdata.2017.04.002.
42. Bundale S., Begde D., Nashikkar N., Kadam T., Upadhyay A. Optimization of culture conditions for production of bioactive metabolites by

Streptomyces spp. isolated from soil. *Advances in Microbiology*. 2015, 5(06): 441. doi: 10.4236/aim.2015.56045.

43. Shirokikh I. G., Shirokikh A. A. Biosynthetic potential of actinomycetes in brown forest soil on the eastern coast of the aegean sea. *Eurasian soil science*. 2017, 50(11): 1311-1317. doi: 10.1134/S1064229317110114.

44. Kersten R. D., Ziemert N., Gonzalez D. J., Duggan B. M., Nizet V., Dorrestein P. C., Moore B. S. Glycogenomics as a mass spectrometry-guided genome-mining method for microbial glycosylated molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013, 110(47): E4407-E4416. doi: 10.1073/pnas.1315492110.

45. Zhao J., Huang Y., Liu D., Chen Y. Two hits are better than one: synergistic anticancer activity of α -helical peptides and doxorubicin/epirubicin. *Oncotarget*. 2015, 6(3): 1769. doi: 10.18632/oncotarget.2754

46. Jobe M., Anwuzia-Iwegbu C., Banful A., Bosier E., Iqbal M., Jones K., et al. Differential in vitro activity of the DNA topoisomerase inhibitor idarubicin against *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2012,107: 946-950.

47. Gajadeera C., Willby M. J., Green K. D., Shaul P., Fridman M., Garneau-Tsodikova S., et al. Antimycobacterial activity of DNA intercalator inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* primase DnaG. *The Journal of antibiotics*. 2015, 68(3): 153-157. doi: 10.1038/ja.2014.131

48. Biswas T., Green K. D., Garneau-Tsodikova S., Tsodikov O. V. Discovery of inhibitors of *Bacillus anthracis* primase DnaG. *Biochemistry*. 2013, 52(39): 6905-6910. doi: 10.1021/bi4011286

49. Dwivedi N., Dube D., Pandey J., Singh B., Kukshal V., Ramachandran R., Tripathi R. P. NAD⁺-Dependent DNA Ligase: A novel target waiting for the right inhibitor. *Medicinal research reviews*. 2008, 28(4): 545-568. doi: 10.1002/med.20114

50. Suntornthiticharoen P., Srila W., Chavalitshewinkoon-Petmitr P., Limudomporn P., Yamabhai M. Characterization of recombinant malarial RecQ DNA helicase. *Molecular and biochemical parasitology*. 2014, 196(1): 41-44. doi: 10.1016/j.molbiopara.2014.07.013

51. Fakhar Z., Khan S., AlOmar S. Y., Alkhuriji A., Ahmad A. ABBV-744 as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease enzyme against COVID-19. *Scientific Reports*. 2021, 11(1): 1-15. doi: 10.1038/s41598-020-79918-3
52. Chan P. F., Srikannathasan V., Huang J., Cui H., Fosberry A. P., Gu M., et al. Structural basis of DNA gyrase inhibition by antibacterial QPT-1, anticancer drug etoposide and moxifloxacin. *Nature communications*. 2015, 6(1): 1-13. doi: 10.1038/ncomms10048
53. Tarique M., Chauhan M., Tuteja R. ATPase activity of *Plasmodium falciparum* MLH is inhibited by DNA-interacting ligands and dsRNAs of MLH along with UvrD curtail malaria parasite growth. *Protoplasma*. 2017, 254(3): 1295-1305. doi: 10.1007/s00709-016-1021-8
54. Tuteja R. Helicases– feasible antimalarial drug target for *Plasmodium falciparum*. *The FEBS journal*. 2007, 274(18): 4699-4704. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.06000.x.
55. Kolarevic A., Yancheva D., Kocic G., Smelcerovic A. Deoxyribonuclease inhibitors. *European journal of medicinal chemistry*. 2014, 88: 101-111. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.040.
56. Kaczor A., Matosiuk D. Structure-based virtual screening for novel inhibitors of Japanese encephalitis virus NS3 helicase/nucleoside triphosphatase. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2010, 58(1): 91-101. doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00619.x
57. Singh B. N., Achary V. M. M., Panditi V., Sopory S. K., Reddy M. K. Dynamics of tobacco DNA topoisomerases II in cell cycle regulation: to manage topological constrains during replication, transcription and mitotic chromosome condensation and segregation. *Plant molecular biology*. 2017, 94(6): 595-607. doi: 10.1007/s11103-017-0626-4
58. Kaiserová H., Šimůnek T., van der Vijgh W. J., Bast A., Kvasničková E. Flavonoids as protectors against doxorubicin cardiotoxicity: role of iron chelation, antioxidant activity and inhibition of carbonyl reductase. *Biochimica et Biophysica Acta*

(BBA)-Molecular Basis of Disease. 2007, 1772(9): 1065-1074. doi: 10.1016/j.bbadis.2007.05.002

59. Piska K., Koczurkiewicz P., Wnuk D., Karnas E., Bucki A., Wójcik-Pszczola K., et al. Synergistic anticancer activity of doxorubicin and piperlongumine on DU-145 prostate cancer cells—the involvement of carbonyl reductase 1 inhibition. *Chemico-Biological Interactions*. 2019, 300: 40-48. doi: 10.1016/j.cbi.2019.01.003

60. Hanušová V., Králová V., Schröterová L., Trilecová L., Pakostová A., Skálová L. The effectiveness of oracin in enhancing the cytotoxicity of doxorubicin through the inhibition of doxorubicin deactivation in breast cancer MCF7 cells. *Xenobiotica*. 2010, 40(10): 681-690. doi: 10.3109/00498254.2010.508821

61. Hintzpeter J., Hornung J., Ebert B., Martin H. J., Maser E. Curcumin is a tight-binding inhibitor of the most efficient human daunorubicin reductase—Carbonyl reductase 1. *Chemico-Biological Interactions*. 2015, 234: 162-168. doi: 10.1016/j.cbi.2014.12.019

62. Shen F., Chu S., Bence A. K., Bailey B., Xue X., Erickson P. A., et al. Quantitation of doxorubicin uptake, efflux, and modulation of multidrug resistance (MDR) in MDR human cancer cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2008, 324(1): 95-102. doi: 10.1124/jpet.107.127704

63. Анікусько М. Ф., Зотов О. С., Мотузюк І. М., Олійниченко Г. П., Півнюк В. М., Пономарьова О. В., та ін. Клінічні аспекти резистентності раку молочної залози до антрациклінових антибіотиків. 2009, 11(2): 148-153.

64. Guerra-Bubb J., Croteau R., Williams R. M. The early stages of taxol biosynthesis: an interim report on the synthesis and identification of early pathway metabolites. *Natural product reports*. 2012, 29(6): 683-696. doi: 10.1039/c2np20021j

65. Mousa W. K., Raizada M. N. The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: an interdisciplinary perspective. *Frontiers in microbiology*. 2013, 4: 65. doi: 10.3389/fmicb.2013.00065

66. Krishnan A. V., Swami S., Feldman D. Equivalent anticancer activities of dietary vitamin D and calcitriol in an animal model of breast cancer: importance of

mammary CYP27B1 for treatment and prevention. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2013, 136: 289-295. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.08.005

67. Kang D. J., Im J. H., Kang J. H., Kim K. H. Whole cell bioconversion of vitamin D3 to calcitriol using *Pseudonocardia* sp. KCTC 1029BP. *Bioprocess and biosystems engineering*. 2015, 38(7): 1281-1290. doi: 10.1007/s00449-015-1368-9

68. Inglis D. O., Binkley J., Skrzypek M. S., Arnaud M. B., Cerqueira G. C., Shah P., et al. Comprehensive annotation of secondary metabolite biosynthetic genes and gene clusters of *Aspergillus nidulans*, *A. fumigatus*, *A. niger* and *A. oryzae*. *BMC microbiology*. 2013, 13(1): 1-23. doi.org/10.1186/1471-2180-13-91

69. Sakai K., Kinoshita H., Nihira T. Heterologous expression system in *Aspergillus oryzae* for fungal biosynthetic gene clusters of secondary metabolites. *Applied microbiology and biotechnology*. 2012, 93(5): 2011-2022. doi: 10.1007/s00253-011-3657-9

70. Xu Y., Kersten R. D., Nam S. J., Lu L., Al-Suwailem A. M., Zheng H., et al. Bacterial biosynthesis and maturation of the didemnin anti-cancer agents. *Journal of the American Chemical Society*. 2012, 134(20): 8625-8632. doi: 10.1021/ja301735a

71. Karbownik M. S., Nowak J. Z. Hyaluronan: towards novel anti-cancer therapeutics. *Pharmacological Reports*. 2013, 65(5): 1056-1074.

72. Chauhan A. S., Badle S. S., Ramachandran K. B., Jayaraman G. The P170 expression system enhances hyaluronan molecular weight and production in metabolically-engineered *Lactococcus lactis*. *Biochemical engineering journal*. 2014, 90: 73-78. doi: 10.1016/j.bej.2014.05.012

73. Gomes N. G., Dasari R., Chandra S., Kiss R., Kornienko A. Marine invertebrate metabolites with anticancer activities: Solutions to the “supply problem”. *Marine drugs*. 2016, 14(5): 98. doi: 10.3390/md14050098

74. Demain A. L., Vaishnav P. Natural products for cancer chemotherapy. *Microbial biotechnology*. 2011, 4(6): 687-699. doi: 10.1111/j.1751-7915.2010.00221.x

75. De Silva D. D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Aisyah Alias S., Hyde K. D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological

activities and chemistry. *Fungal Diversity*. 2013, 62(1): 1-40. doi: 10.1007/s13225-013-0265-2

76. Osama N., Bakeer W., Raslan M., Soliman H. A., Abdelmohsen U. R., Sebak M. Anti-cancer and antimicrobial potential of five soil *Streptomyces*: a metabolomics-based study. *Royal Society Open Science*. 2022, 9(2): 211509. doi.org/10.1098/rsos.211509

77. Pillai G. Nanotechnology toward treating cancer: a comprehensive review. Applications of targeted nano drugs and delivery systems. 2019. 221-256 p. Doi: 10.1016/B978-0-12-814029-1.00009-0

78. Zhang Y., Dai Y., Hou M., Li T., Ge J., Liu Z. Chemo-enzymatic synthesis of valrubicin using Pluronic conjugated lipase with temperature responsiveness in organic media. *RSC advances*. 2013, 3(45): 22963-22966. doi: 10.1039/C3RA44879G

79. Shah S., Chib R., Raut S., Bermudez J., Sabnis N., Duggal D., et al. Photophysical characterization of anticancer drug valrubicin in rHDL nanoparticles and its use as an imaging agent. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2016, 155: 60-65. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2015.12.007

80. Rathore K., Cekanova M. A novel derivative of doxorubicin, AD198, inhibits canine transitional cell carcinoma and osteosarcoma cells in vitro. *Drug design, development and therapy*. 2015, 9: 5323. doi: 10.2147/DDDT.S90859

81. Pandey S., Bourn J., Cekanova M. Mutations of p53 decrease sensitivity to the anthracycline treatments in bladder cancer cells. *Oncotarget*. 2018, 9(47): 28514.

82. Huseman E. D., Byl J. A. W., Chapp S. M., Schley N. D., Osheroff N., Townsend S. D. Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Arimetamycin A and Its Daunorubicin and Doxorubicin Hybrids. *ACS central science*. 2021, 7(8): 1327-1337. doi: 10.18632/oncotarget.25530

83. Sun D. Chromatin Immunoprecipitation Assay to Analyze the Effect of G-Quadruplex Interactive Agents on the Binding of RNA Polymerase II and Transcription Factors to a Target Promoter Region. In *G-Quadruplex Nucleic Acids*. Humana, New York, NY. 2019. 233-242 pp. doi: 10.1007/978-1-4939-9666-7_13

84. Obounchoey P., Tabtimmai L., Suphakun P., Thongkhao K., Eurtivong C., Gleeson M. P., Choowongkomon K. In silico identification and in vitro validation of nogalamycin N-oxide (NSC116555) as a potent anticancer compound against non-small-cell lung cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2019, 120(3): 3353-3361. doi: 10.1002/jcb.27605
85. Claesson M., Siitonen V., Dobritzsch D., Metsä-Ketelä M., Schneider G. Crystal structure of the glycosyltransferase SnogD from the biosynthetic pathway of nogalamycin in *Streptomyces nogalater*. *The FEBS journal*. 2012, 279(17): 3251-3263. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08711.x
86. Nogalamycin. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nogalamycin>
87. Tsunematsu Y., Hirayama Y., Masuya T., Watanabe K. Oxidative Modification Enzymes in Polyketide Biosynthetic Pathways. *Comprehensive Natural Products III (Third Edition). Chemistry and Biology*. 2020, 479-505 pp. doi: 10.1016/B978-0-12-409547-2.14637-2
88. GHS Classification. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ghs/#_atop
89. Nogalamycin. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.medchemexpress.com/nogalamycin.html>
90. Carter S. K., Sakurai Y., Umezawa H. *New drugs in cancer chemotherapy*. Springer Science & Business Media. 2013, 161 pp.
91. Rad F. H., Le Buanec H., Paturance S., Larcier P., Genne P., Ryffel B., Uzan G. VEGF kinoid vaccine, a therapeutic approach against tumor angiogenesis and metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007, 104(8): 2837-2842. doi: 10.1073/pnas.0611022104
92. Wu J. Statistical inference for tumor growth inhibition T/C ratio. *Journal of biopharmaceutical statistics*. 2010, 20(5): 954-964. doi: 10.1080/10543401003618983
93. Рак молочної залози. Діагностика та лікування. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pfizermed.com.ua/public/medical->

[content/%D1%80%D0%B0%D0%BA-%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%BE%D1%97-%D0%B7%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B7%D0%B8-%D0%B4%D1%96%D0%B0%D0%B3%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0-%D1%82%D0%B0-%D0%BB%D1%96%D0%BA%D1%83%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F/2741](https://phcent.com.ua/rak-molochnoi-zalozy-najposhyrenisha-prychyna-smerti-vid-onkologii-sered-zhinok-u-sviti/)

94. Рак молочної залози — найпоширеніша причина смерті від онкології серед жінок у світі. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://phcent.com.ua/rak-molochnoi-zalozy-najposhyrenisha-prychyna-smerti-vid-onkologii-sered-zhinok-u-sviti/>

95. Теренда Н. О., Гандзюк Н. М. Ретроспективне дослідження онкогінекологічної патології у 2015–2019 роках. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*. 2021, (1): 11-14.

96. Розподіл постійного населення за статтю, основними віковими групами, співвідношення чоловіків і жінок та середній вік населення в Україні. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://database.ukrcensus.gov.ua/MULT/Dialog/view.asp?ma=3&ti=%D0%EE%E7%E F%EE%E4%B3%EB+%EF%EE%F1%F2%B3%E9%ED%EE%E3%EE+%ED%E0%F 1%E5%EB%E5%ED%ED%FF+%E7%E0+%F1%F2%E0%F2%F2%FE%2C+%EE%F 1%ED%EE%E2%ED%E8%EC%E8+%E2%B3%EA%EE%E2%E8%EC%E8+%E3%F 0%F3%EF%E0%EC%E8%2C+%F1%EF%B3%E2%E2%B3%E4%ED%EE%F8%E5 %ED%ED%FF+%F7%EE%EB%EE%E2%B3%EA%B3%E2+%B3+%E6%B3%ED% EE%EA+%F2%E0+%F1%E5%F0%E5%E4%ED%B3%E9+%E2%B3%EA+%ED%E0 %F1%E5%EB%E5%ED%ED%FF+%E2+%D3%EA%F0%E0%BF%ED%B3&path=../ Quicktables/KEY_IND/1/&lang=1&multilang=uk

97. Держстат розрахував портрет середньостатистичного українця. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://lb.ua/society/2021/08/10/491375_derzhstat_rozrahuvav_portret.html#:~:text=%D0%A1%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%BD%D1%96%20%D0%B7%D

[1%80%D1%96%D1%81%D1%82%20%D1%96%20%D0%B2%D0%B0%D0%B3%D0%B0%20%D1%83%D0%BA%D1%80%D0%B0%D1%97%D0%BD%D1%81%D1%8C%D0%BA%D0%B8%D1%85,%D1%82%D0%B0%2071%20%D0%BA%D1%96%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D0%BC%20\(%D0%B6%D1%96%D0%BD%D0%BA%D0%B8\).](#)

98. Наказ Міністерства охорони здоров'я України 30.06.2015 № 396 «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги».

99. ПРОТИПУХЛИННІ ПРЕПАРАТИ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://1sa.com.ua/protivoopuholevye-preparaty/>

100. Наказ №514 «Про затвердження Формулярного довідника з використання лікарських засобів в онкології» від 05.09.2008.

101. ДОКСОРУБЦИН АККОРД. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://apteka911.ua/ua/drugs/k55354>

102. Doxorubicin. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://reference.medscape.com/drug/doxorubicin-342120>

103. Беленічев І. Ф., Дунаєв В. В., Бухтіярова Н. В., Тржецинський С. Д., Павлов, С. В., Тихоновський, О. В., та інші. Загальна рецептура. К. – Запоріжжя. 2010. – 36 с.

104. ІН'ЄКЦІЙНЕ ТА ІНФУЗІЙНЕ ВВЕДЕННЯ ЛІКІВ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://profimed.com.ua/likuval-no-profilaktychnyy-pidrozdil/sestryns-ki-manipuliatsii/in-iektsiynе-ta-infuziynе-vvedennia-likiv/>

105. КОНЦЕНТРАТИ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙНИХ ЛІКІВ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3675/koncentrati-dlya-in-yekcijnix-li-kiv>

106. Інфузія і катетеризація. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://u-port.ua/infuziya-i-kateterizatsiya/>

107. ІНФУЗІЙНІ (АБО ЕКВІЛІБРОВАНІ) РОЗЧИНИ. [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3368/infuzijni-abo-ekvilibrovani-rozchini>

108. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва / за ред. Д. І. Дмитрієвського. Вінниця : НОВА КНИГА, 2008. 280 с.

109. Фленокс 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл розтвор для ін'єкцій шприц №10. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.add.ua/ua/flenoks-rastvor-dlja-in-ekcij-4000-anti-ha-mo-shpric-0-4ml-10-blister.html>

110. Лінкоцин р-н д/ін. 300мг/мл 2мл №1. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://sanitas.ua/product/8874>

111. Тризипін, розчин. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://microkhim.com.ua/product/trizipin-rozchin/>

112. Флорон 30% (ДЛЯ ЖИВОТНЫХ) розтвор для ін'єкцій, 100 мл. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tabletki.ua/%D0%A4%D0%BB%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD-30/1044439/>

113. Ямнюк О. К. Сучасні види упаковки готових лікарських засобів. *Наукові розробки молоді на сучасному етапі*. 2018.

114. ТАРА, ЗАКУПОРЮВАЛЬНІ ЗАСОБИ, ПАКУВАЛЬНІ МАТЕРІАЛИ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://tdmuv.com/kafedra/internal/upr_ekon/lectures_stud/uk/pharm/prov_pharm/ptn/%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B5%20%D1%82%D0%B0%20%D1%84%D0%B0%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D0%B5%D0%B2%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B5%20%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D1%80%D0%BE%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%BE/5/1%20%D1%82%D0%B0%D1%80%D0%B0.htm

115. Risdian C., Mozef T., Wink J. Biosynthesis of polyketides in *Streptomyces*. *Microorganisms*. 2019, 7(5): 124.

116. Braña A. F., Fiedler H. P., Nava H., González V., Sarmiento-Vizcaíno A., Molina A., et al. Two *Streptomyces* species producing antibiotic, antitumor, and anti-inflammatory compounds are widespread among intertidal macroalgae and deep-sea

coral reef invertebrates from the central Cantabrian Sea. *Microbial ecology*. 2015, 69(3): 512-524. doi: 10.1007/s00248-014-0508-0.

117. Li M., Zhang Z. The *snogI* Gene is Necessary for the Proper Functioning of the Nogalamycin Biosynthesis Pathway. *Indian Journal of Microbiology*. 2021, 61(4): 467-474. doi: 10.1007/s12088-021-00941-7

118. Klymyshyn D. A., Stefanyshyn O. N., Fedorenko V. A. Role of genes *snoaM*, *snoaL*, and *snoaE* in the biosynthesis of nogalamycin in *Streptomyces nogalater* Lv65. *Cytology and Genetics*. 2015, 49(3), 152-157.

119. U.S. Patent US3183157A. Antibiotic nogalamycin and method of producing / Bhuyan B. K., Kelly R. B., Smith R. M. Filed: 01.02.1963.

120. Концентратоміри. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.svaltera.ua/catalog/765/>

121. Концентратомер КВЧ 5М. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://standart-m.com.ua/izmeritelnye-pribory/konduktometry/koncentratomer-kvch-5m?mova=uk>

122. Вологомір - типи і принцип роботи. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://ua.interfax.com.ua/news/press-release/757880.html>

123. Аналізатор вологості RADWAG MA 50.R, Ваги-вологоміри [Електронний ресурс]. Режим доступу: https://dilis.ua/p20905979-analizator-vlazhnosti-radwag.html?source=merchant_center&gclid=CjwKCAiA2fmdBhBpEiwA4CcHzRk1y8a5fWuUIWGecg01I79Va9Rbj8yehQrHIDiOX_TISgw94AN3TBoCW4UQAvD_BwE

124. КЛАСИФІКАЦІЯ ВИРОБНИЧИХ ПРИМІЩЕНЬ. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3558/klasifikaciya-virobnichix-primishhen>

125. Технологія ліків промислового виробництва: Підруч. Для студ. вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед.навч. закл. III—IV рівнів акредитації /В. І.Чуєшов, Л. М.Хохлова, О. О. Ляпунова та ін.; За ред. В. І.Чуєшова —Х.:Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. — 720с.

126. Фільтр тонкого очищення повітря (ФТОВ, НЕРА, ХЕПА). [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://tehnofilter.ua/goods/view/6364274/all/filtr-tonkogo-ochishchennya-povitrya-ftov-nera-hepa/>

127. Фільтри ULPA надвисокоєфективного очищення повітря типу ФяС-U класів U15-U16. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://folter.com.ua/catalog/fyasu15u16>

128. Промисловий HDPE піщаний фільтр для пом'якшення води з FRP резервуар. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://uk.hytank-export.com/water-softening-frp-tank/industrial-hdpe-sand-filter-water-softening-frp-tank>

129. Вугільні фільтри для води. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.aquanova.com.ua/ua/ugolnyy-filtr/>

130. Ampoule Liquid Filling Sealing Production Line. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.marya.com.cn/product/Ampoule-Liquid-Filling-Sealing-Production-Line-212.html>

131. Ampoule Labeling Machine. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.vkpak.com/ampoule-labeling-machine.html>

132. Automatic Ampoule/Vial Cartoning Machine. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.grand-packing.com/automatic-horizontal-cartoning-machine-for-ampoule.html>

ДОДАТОК

Ministry of Education and Science of Ukraine

National University of Food Technologies

88

**International scientific conference
of young scientist and students**

**"Youth scientific achievements
to the 21st century nutrition
problem solution"**

April – May, 2022

Part 1

Kyiv, NUFT, 2022

21. Аналоги антибіотиків антрациклінового ряду

Юлія Олексюк

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Головним недоліком антибіотиків антрациклінового ряду на сьогодні вважається їх кардіотоксичність. Тому, актуальним питанням для сучасних науковців став пошук нових альтернатив щодо зазначених протипухлинних препаратів.

Матеріали та методи. Під час дослідження було застосовано аналіз праць закордонних вчених останніх років, які знаходяться в загальному доступі. Також, використовувались методи порівняння, дедукції та індукції.

Результати та обговорення. Умовно, аналоги можна поділити на 2 групи: ті, що синтезуються з відомих антрациклінових антибіотиків, та ті, що є іншими речовинами, але мають аналогічні властивості.

Перша група представлена речовинами, що одержані напівсинтетичним або синтетичним шляхом. Відомими заміниками доксорубіцину є анаміцин та валрубіцин. Анаміцин є напівсинтетичним аналогом. Не має аміногрупи в цукровій частині, як у попередника, зменшуючи кардіотоксичність без змін властивостей. Валрубіцин одержують хімічно-ферментативним шляхом. Має побічні ефекти. Використовується обмежено через погану розчинність та біологічну сумісність.

Друга група представлена різноманітними антрациклінами. До них можна віднести таксоли, епотилони, камптотецини та інші. Основним джерелом таксолів є різні сорти тиси *Taxus* sp., але найчастіше в роботах зустрічаються *T. canadensis* та *T. brevifolia*. З останнього було виділено ген, який відповідає за синтез таксодіенсинтази, та вбудовано у *Escherichia coli*.

Епотилони – це кільцеві полікетидні макролідні лактони, що синтезує *Sorangium cellulosum*, яку було розроблено як протигрибковий засіб проти грибків іржі. Нині, ці препарати використовуються проти раку, коли пухлини є стійкими до таксолів. До таких речовин відносяться епотилони (А, В, С та D), іксебепілон, дексоепітелон F та інші.

Камптотецин – це модифікований індоловий алкалоїд, що синтезується деякими рослинами. Його також виробляє гриб *Entrophospora infrequens*. Препарат використовується для лікування рецидивуючого раку товстої кишки і має незвичайну дію проти раку легенів, яєчників і матки. Похідні камптотецину іринотекан і топотекан також використовуються клінічно у боротьбі з раковими пухлинами.

Висновки. Слід врахувати, що не всі аналоги можуть стати повноцінною заміною протипухлинних антибіотиків. Тому, досі є потреба ретельного дослідження цих заміників та їх ефективності застосування проти ракових захворювань.

Література

1. Pillai G. (2019), Nanotechnology toward treating cancer: A comprehensive review, Applications of targeted nano drugs and delivery systems, p. 221-256. doi: 10.1016/B978-0-12-814029-1.00009-0.
2. Huseman E.D., Byl J.A.W., Chapp S.M., Schley N.D., Osheroff N., Townsend S.D. (2021). Synthesis and Cytotoxic Evaluation of Arimetamycin A and Its Daunorubicin and Doxorubicin Hybrids, ACS central science, 7(8), p. 1327-1337. doi: 10.18632/oncotarget.25530.
3. Demain A.L., Vaishnav P. (2011), Natural products for cancer chemotherapy, Microbial biotechnology, 4(6), p. 687-699. doi: 10.1111/j.1751-7915.2010.00221.x.