



# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

(назва)

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології  
і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ 30 ” жовтня 2023 року

## З А В Д А Н Н Я

### НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

СТЕЦЕНКО Анастасії Вадимівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Полісахариди для трансдермальної доставки ліків

керівник роботи ПИРОГ Тетяна Павлівна д.б.н., професор,  
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 31 жовтня 2023 року № 780-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 05.02.2024

3. Вихідні дані до роботи Екзополісахарид для трансдермальної доставки ліків. Етапи його виділення та очистки. Трансдермальний лікарський засіб на його основі

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Літературний огляд. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу(ЛЗ). Обґрунтування вибору етапів після ферментаційного виділення та очищення субстанції та підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції. Специфікація обладнання. Опис технологічної схеми після ферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ. Опис технологічної схеми отримання ЛЗ. Опис лікарського засобу згідно АНД.

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема виділення та очищення пулулану – 1 аркуш формату А-1.

Технологічна схема виділення та очищення пулулану – 1 аркуш формату А-1.

Апаратурна схема одержання трансдермального засобу на основі мікроглобок – 1 аркуш формату А-1.

Технологічна схема одержання трансдермального засобу на основі мікроголок – 1 аркуш формату А-2.

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  | РОЗДІЛ 1. Огляд літератури   | 01.11.2023-03.12.2023         |          |
| 2  | РОЗДІЛ 2. Техніко-економічне обґрунтування виробництва лікарського засобу  | 04.12.2023-10.12.2023         |          |
| 3  | РОЗДІЛ 3. Обґрунтування вибору етапів післяферментаційного виділення та очищення субстанції та підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях отримання субстанції | 11.12.2023-17.12.2023         |          |
| 4  | РОЗДІЛ 4. Опис технологічної схеми післяферментаційного виділення і очищення субстанції для одержання ЛЗ   | 18.12.2023-19.12.2023         |          |
| 5  | РОЗДІЛ 5. Специфікація обладнання + графічна частина: ТС+АС (етапи виділення та очистки субстанції)  | 20.12.2023-22.12.2023         |          |
| 6  | РОЗДІЛ 6. Контроль виробництва субстанції для ЛЗ.  | 23.12.2023-24.12.2023         |          |
| 7  | РОЗДІЛ 7. Обґрунтування вибору технологічної схеми одержання ЛЗ  | 25.12.2023-03.01.2024         |          |
| 8  | РОЗДІЛ 8. Специфікація обладнання + графічна частина: ТС+АС (етапи отримання ЛЗ)   | 04.01.2024 - 10.01.2024       |          |
| 9  | РОЗДІЛ 9. Опис технологічної схеми (отримання ЛЗ)  | 11.01.2024-15.01.2024         |          |
| 10 | РОЗДІЛ 10. Опис лікарського засобу згідно АНД  | 16.01.2024-20.01.2024         |          |
|    |  |                               |          |

Здобувач

\_\_\_\_\_ Анастасія СТЕЦЕНКО \_\_\_\_\_  
(підпис) (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

\_\_\_\_\_ Тетяна ПИРОГ \_\_\_\_\_  
(підпис) (ім'я та прізвище)

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційну роботу присвячено розробці лікарського препарату, що матиме трансдермальний спосіб доставки лікарської речовини, завдяки застосуванню природних полісахаридів. Робота включає в себе пошук універсального полісахариду, трансдермальну систему, де він найбільш необхідний та розробку подальшого технологічного процесу створення лікарського препарату.

Огляд літератури висвіглив, що найбільш перспективним є трансдермальний спосіб доставки інсуліну за допомогою мікроголок, які є біосумісними та біодеградабельними. А техніко-економічне обґрунтування дало змогу порівняти популярні полісахариди, що використовуються в медицині. Таким чином, було обрано полісахарид пулулан, синтезований модифікованим штамом *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1. У прєкті була розрахована необхідна потужність виробництва самого полісахариду, а також в подальшому самих трансдермальних пластирів на основі мікроголок. Була розроблена технологічна та апаратурна схема виділення та очищення пулулану. Вона складається з допоміжних (де іонізація води), основних робіт технологічного процесу (зберігання культуральної рідини, попередня обробка культуральної рідини перед відділенням біомаси, відділення біомаси, очищення супернатанту від меланіну, концентрування супернатанту, виділення пулулану, очищення пулулану) та стадії фасування, маркування, відвантаження. Також, була спрєктованна технологічна та апаратурна схема створення самих трансдермальних пластирів на основі мікроголок, що включає допоміжні роботи(очищення повітря, підготовка води (надчистої), приготування розчинів пулулану), технологічний процес (створення шарів трансдермального пластиру на основі мікроголок, створення повноцінного пластиру необхідної форми).

Кваліфіаційна робота викладена на 150 сторінках друкованого тексту, містить 15 таблиць, 11 рисунків. Складається з вступу, десяти розділів, списку використаної літератури (113 джерел) та графічної частини (3 креслення формату А1, 1 креслення формату А2).

**Ключові слова:** мікроголки, трансдермальний пластир, пулулан, інсулін, *Aureobasidium pullulans*.

## ABSTRACT

The qualification work is devoted to the development of a medicinal product that will have a transdermal method of delivery of the medicinal substance, thanks to the use of natural polysaccharides. The work includes the search for a universal polysaccharide, a transdermal system where it is most needed, and the development of the further technological process of creating a medicinal drug.

A review of the literature revealed that the most promising is the transdermal delivery method of insulin using microneedles, which are biocompatible and biodegradable. And the feasibility study made it possible to compare popular polysaccharides used in medicine. Thus, the polysaccharide pullulan synthesized by the modified strain *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 was chosen. The project calculated the required production capacity of the polysaccharide itself, as well as, in the future, of the transdermal patches based on microneedles. A technological and equipment scheme for extracting and purifying pullulan was developed. It consists of auxiliary (deionization of water), main works of the technological process (storage of culture liquid, preliminary treatment of culture liquid before separation of biomass, separation of biomass, purification of the supernatant from melanin, concentration of the supernatant, separation of pullulan, purification of pullulan) and the stage of packaging, labeling, shipment. Also, a technological and hardware scheme for the creation of transdermal patches based on microneedles was designed, which includes auxiliary works (air purification, preparation of (ultrapure) water, preparation of pullulan solutions), a technological process (creation of layers of a transdermal patch based on microneedles, creation of a full-fledged patch of the necessary forms).

The qualification work is laid out on 150 pages of printed text, contains 15 tables, 11 figures. It consists of an introduction, ten chapters, a list of used literature (113 sources) and a graphic part (3 drawings of A1 format, 1 drawing of A2 format).

**Key words:** microneedles, transdermal patch, pullulan, insulin, *Aureobasidium pullulans*.

## ЗМІСТ

|  |                    |
|--|--------------------|
| РЕФЕРАТ.....   | 3                  |
| ВСТУП.....   | 10                 |
| РОЗДІЛ 1.ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....   | 11                 |
| 1.1 Способи трансдермальної доставки ліків.....  | 11                 |
| 1.1.1 Трансдермальні пластирі.....   | 11                 |
| 1.1.2. Іонофорез.....  | 12                 |
| 1.1.3. Ультразвук.....   | 13                 |
| 1.1.4.Мікроголки.....  | 13                 |
| 1.1.5. Електропорація.....   | 15                 |
| 1.1.6. Шляхи використання полісахаридів.....   | 16                 |
| у трансдермальній доставці ліків.....  | 16                 |
| 1.2. Технологічні особливості одержання природних полісахаридів для<br>трансдермальної доставки ліків.....   | 27                 |
| 1.2.1. Полісахариди мікробного походження.....   | 27                 |
| 1.2.2. Полісахариди рослинного походження.....   | 31                 |
| 1.2.3. Полісахариди тваринного походження.....   | 32                 |
| РОЗДІЛ 2.ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛЗ.....  | 37                 |
| 2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ.....   | 37                 |
| 2.2.Обґрунтування форми випуску лікарського засобу.....  | 41                 |
| 2.2.1. Обґрунтування форми випуску лікарського засобу.....   | <a href="#">41</a> |
| 2.2.2.Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки лікарського засобу<br>.....                       | 42                 |
| 2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для<br>інженерної частини роботи..... | 42                 |

|   |    |
|---|----|
| 2.4. Розрахунок потреби у субстанції для випуску ЛЗ та розрахунок річної потреби у культуральній рідині для одержання розрахованої кількості субстанції ..... | 56 |
| 2.4.1. Розрахунок потужності виробництва.....   | 56 |
| 2.4.2. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера.....   | 57 |

РОЗДІЛ 3. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ТА ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ .....

|  |    |
|--|----|
| 3.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення пулулану .....                                | 58 |
| 3.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду.....                                     | 58 |
| 3.1.2. Обґрунтування попередньої обробки культуральної рідини перед відділенням біомаси..... | 60 |
| 3.1.3. Обґрунтування способу відділення біомаси .....  | 60 |
| 3.1.4. Обґрунтування способу очищення супернатанту від меланіну .....                        | 62 |
| 3.1.5. Обґрунтування способу концентрування супернатанту .....                               | 62 |
| 3.1.6. Обґрунтування способу виділення пулулану із супернатанту.....                         | 63 |
| 3.1.7. Обґрунтування способу відділення осаду пулулану .....                                 | 64 |
| 3.1.8. Обґрунтування способу очищення пулулану .....   | 64 |
| 3.1.9. Обґрунтування способу сушіння пулулану .....  | 65 |
| 3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків .....               | 66 |
| 3.2.1. Підбір обладнання для сепарування біомаси.....  | 74 |
| 3.2.2. Підбір обладнання для концентрування супернатанту шляхом випарювання .....            | 75 |
| 3.2.3. Підбір обладнання для очищення осаду пулулану ультрафільтруванням ..                  | 77 |
| 3.2.4. Підбір обладнання для сушіння пулулану .....  | 77 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.2.5. Підбір обладнання для пакування пулулану.....   | 81  |
| РОЗДІЛ 4.СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ .....   | 3   |
| РОЗДІЛ 5.ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДЛЯ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО<br>ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО<br>ЗАСОБУ..... | 93  |
| РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО<br>ЗАСОБУ.....   | 96  |
| 6.1. Визначення вмісту та молекулярної маси пулулану .....   | 96  |
| 6.2. Визначення вологості препарату.....   | 95  |
| 6.3. Визначення вмісту пулулану у напівфабрикатах і готовій субстанції .....   | 95  |
| РОЗДІЛ 7.ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДЛЯ<br>ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ.....   | 103 |
| 7.1. Розрахунок річної потужності виробництва ЛЗ та кількості серій на рік .....   | 103 |
| 7.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень.....   | 105 |
| 7.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки .....  | 106 |
| 7.4. Обґрунтування вибору підготовки води.....   | 106 |
| 7.5. Вибір технологічних стадій та операцій, обладнання .....  | 108 |
| 7.5.1. Методика виготовлення трансдермальних пластирів у .....   | 108 |
| лабораторних умовах .....  | 108 |
| 7.5.2 Адаптація лабораторного процесу до промислового.....   | 108 |
| РОЗДІЛ 8.СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ .....   | 114 |
| РОЗДІЛ 9.ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИГОТОВЛЕННЯ<br>ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ПЛАСТИРІВ НА ОСНОВІ МІКРОГОЛОК .....                                 | 123 |
| 9.1. Допоміжні роботи .....  | 123 |
| 9.2. Стадії технологічного процесу.....  | 124 |
| РОЗДІЛ 10.ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД.....  | 126 |

|                                     |     |
|-------------------------------------|-----|
| СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ..... | 137 |
| ДОДАТКИ .....                       | 150 |

## ВСТУП

Пулулан є одним із поширених природних полімерів, що застосовуються в медицині для доставки ліків. Він показав свою біосумісність, хорошу біодеградацію, механічну стійкість, здатність до набухання та відсутність цитотоксичності.

Актуальність. Цукровий діабет займає третє місце серед захворювань в Україні (<https://phc.org.ua/>). Діабет першого типу потребує щоденного інвазивного лікування інсуліном, який є болісним, та має ряд можливих ризиків: інфікування, ліподистрофії, помилкове дозування. Тому ми почали досліджувати створення трансдермального пластиря на основі мікроголок, наповнених інсуліном, як альтернатива ін'єкціям, особливо для дітей, які мають тріпанофобію.

Останніми ми перспективними напрацюваннями були механічно стійкі, не цитотоксичні мікроголки з пуллулану для доставки інсуліну, що включали в себе препарат без змін у його вторинній структурі (87% інсуліну вивільнялося під шкіру протягом перших 120 хвилин) (Fonseca, Costa, & Freire, 2020). Також, були створенні масиви мікроголок з пуллулану, які можуть слугувати для вивільнення як інсуліну, так і інших молекул ліків з низькою чи високою молекулярною масою через шкіру (Vora, Courtenay, & Donnelly, 2020). Проблемою є дорога вартість виробництва даного полісахариду .

Нашим напрацюванням є створення трансдермального пластиря на основі пірамідальних мікроголок шляхом лиття розчину пулулану на матриці з полідиметилсилоксану, якого вистачатиме на день терапії інсуліном.

Новизною даної роботи є реалізація економічно вигідного виробництва, виділення та очищення пулулану продуцентом якого є *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1, який синтезує низькомолекулярний полісахарид у кількості 109 г/л за 114 годин та створення трансдермальної системи з пулулану, яка забезпечить тривале контрольоване безболісне вивільнення інсуліну у підшкірно-жирову клітковину.

|           |                |   |        |      |                          |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|--------------------------|-------|---------|
|           |                |   |        |      | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ |       |         |
| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата |                          |       |         |
| Розробник | Стеценко А.В.  |   |        |      | Літера                   | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |                          | 8     | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      | ВСТУП<br>Кафедра БТМ     |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |                          |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |                          |       |         |

## РОЗДІЛ 1

### ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

#### 1.1 Способи трансдермальної доставки ліків

Трансдермальна доставка ліків (ТДЛ) – багатонадійний спосіб надходження ліків в організм через шкірний бар'єр, що виключає інвазивні процедури, проходження лікарських засобів (ЛЗ) через шлунково-кишковий тракт та печінку, тим самим запобігаючи більшості ускладнень та сприяючи кращому терапевтичному ефекту. Сам процес доставки ліків через шкіру не є простим через її зовнішній (роговий) шар, який пропускає лише ліпофільні та низькомолекулярні речовини, тому використовують підсилювачі проникнення (сульфоксиди, азони, спирти та алканоли, гліколи, поверхнево-активні речовини, терпени). Також, велике значення мають полімери з яких формуються трансдермальні системи (пластирі, мікроголки, гідрогелі), оскільки вони впливають на їх властивості, вивільнення та проникність ЛЗ. Вони повинні бути біосумісними, біoadгезивними, не токсичними, не реагувати з ЛЗ, а також, перевагою є їх здатність до біорозкладання. Такі характеристики мають природні екзополісахариди (ЕПС), які використовуються в якості полімерів систем трансдермальної доставки ліків, що робить їх більш перспективними за полімери хімічного походження (Bektaş, 2014; AhmedSaeedAl-Jarairai, 2020; Sun, 2021). Тому, метою є проаналізувати статті останніх десяти років та представити оновлені дані щодо використання природних ЕПС мікробного, рослинного та тваринного походження для різноманітних систем трансдермальної доставки ліків, зокрема дослідити самі методи доставки.

Всі способи трансдермальної доставки ліків поділяються на три покоління (AhmedSaeedAl-Jarairai, Mahmood, &Raman, 2020):

1. Трасдермальні пластирі (ТП).

|           |                |   |        |      |                                 |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|---------------------------------|-------|---------|
|           |                |   |        |      | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ        |       |         |
| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата | РОЗДІЛ 1.<br>ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД |       |         |
| Розробник | Степенко А.В.  |   |        |      | Літера                          | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |                                 | 9     | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      | Кафедра БТМ                     |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |                                 |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |                                 |       |         |

2. Техніка, що підвищує проникність шкіри: іонофорез, хімічні підсилювачі, не кавітаційний ультразвук.

3. Нові хімічні підсилювачі, електропорація, кавітаційний ультразвук (УЗ), термічна абляція, мікродермабразія, використання мікроголок (МГ).

Розберемо найпопулярніші способи кожного покоління.

### **1.1.1 Трансдермальні пластири**

ТП відноситься до трансдермальних систем першого покоління. Це є адгезивна резервуарна система в яку завантажені ліки, що концентровано вивільняються через непошкоджену шкіру (волосяні фолікули, потові та сальні залози) в організм людини/тварини шляхом дифузії (Pastore, Kalia, & Roberts, 2015). Складається він з матриці, що слугує резервуаром для ЛЗ, самого ЛЗ, підкладок, підсилювачів проникнення, чутливих до тиску адгезивів, пластифікаторів та інших допоміжних речовин (Alam, Alam, & Safhi, 2013). ТП існують кількох видів (Al Hanbali, 2019; Mishra, 2023; Nagadev, 2020):

- Одношарові адгезивні пластири містять тільки один полімерний шар, що виконує роль резервуару. З одного боку шару ЛЗ приклеюється, а зі зворотнього – вивільняється. Одним з видів є новинка - паровий ТП, адгезивний полімер якого повинен мати властивості паровивільнення.

- Багатошарові пластири відрізняються тим, що містять додатковий адгезивний шар, розділений мембраною.

- Резервуарні пластири мають резервуарний шар для розчину ЛЗ, що складається з непроникної пластикової підкладки і пористої полімерної мембрани, що контролює вивільнення препарату шляхом дисперсії. Одним із видів є мікрорезервуарний ТП. Мікрорезервуар готується шляхом суспендування ЛЗ у водному гідрофільному розчині полімеру, потім гомогеннодиспергуючи суспензію ЛЗ на ліпофільному полімері. В результаті утворюються тисячі мікросфер, які не можливо вимити.

- Матричні системи (в якості резервуара слугує напівтверда матриця):

• Матрично-дисперсійна - ЛЗ рівномірно диспергується по гідро- або

ліпофільній матриці, яка потім поміщається у водонепроникну підкладку, а адгезив наноситься ззовні.

- «Ліки в адгезиві» - ЛЗ розсіюють на адгезивний полімер, який згодом розплавляють і розподіляють по непроникній підкладці.

Хоча даний спосіб трансдермальної доставки є одним із найстаріших, та все ж він досі популярний. Станом на 2023 рік в аптечних мережах досі можна знайти ТП : Олфен (диклофенак натрію), Аргетт (ментол, лідокаїн), Естрамон (естрадіол), Фентавера (фентаніл) (Tabletki. ua).

Також, у 2021 році був вдало проведений експеримент створення ТП на основі хітозану, модифікованого наночастинками ZnO для доставки канабідіолу хворим на епілепсію. Полімер показав хороші механічні властивості, пористість та здатність до набухання, а також, відсутність цитотоксичності. Окрім того дану модифікацію можна використовувати і в якості нанокомпозиту для іонофорезу (Radwan-Pragłowska, Janus, & Bogdał, 2021).

### 1.1.2. Іонофорез

Посилення трансдермальної дифузії макромолекулярних ліків за допомогою використання слабкого електричного струму (іонофорез) є досить контрольованим та простим в застосуванні, тому часто використовується як окремо, так і в поєднанні з іншими трансдермальними системами : мікроголками, пластирями, гідрогелями, наночасточками. Основними механізмами проникнення іонів крізь шкіру через потові і сальні залози в кровоносну систему є електроміграція та електроосмос. Поділяється іонофорез за силою струму на безперервний постійний струм та імпульсний струм деполяризації. Останній має перевагу, оскільки не викликає подразнення шкіри (Wang, 2022; Ita, 2016). Апарат для іонофорезу складається з позитивного (анод) та негативного (катод) електродів, та джерела живлення, щоб позитивно заряджені іони вводились через анод, а негативні – через катод. Також можливе застосування декількох лікарських речовин одночасно (поліфармакотерапія). Наприклад, було досліджено і доведено успішну контрольовану анодну доставку гранісетрону, метоклопраміду та катодний

іонофорез дексаметазону натрій фосфату (Cázares-Delgadillo, Ganem-Rondero, &Kalia, 2016).

Гідрогель, матрицею якого слугувала Ксантанова камедь сукцинілована за допомогою янтарного ангідриду, містив в собі гентаміцин. Він показав необхідну антибактеріальну дію, а також не токсичність для людини. Перспективним є можливість посилення та пролонгація трансдермальної доставки такого гелю за допомогою іонофорезу (Wang , Han, &Chen, 2016). Так само й гідрогелю, що містить індометацимн, носіями якого є трансферомоми з гіалуронової кислоти (Yuan , Niu , &Li , 2022).

### **1.1.3. Ультразвук**

Використання УЗ для покращення трансдермальної доставки молекул ЛЗ завдяки підвищенню швидкості міжфазної передачі розчину через мембрану, а також термічного, механічного та радіаційного тиску та конвекційного ефекту називають соно-/ фонофорезом (Li, Huang, Ma, &Qin, 2020). Одним із механізмів дії УЗ є вплив механічної енергії на бульбашки газу – кавітація. Кавітація поділяється на стабільну (періодичне зростання та коливання бульбашок) та інерційну (бурхливе зростання і згорання бульбашок) (Seah, 2018; Wong, 2014).

Сонофорез ділять на : низькочастотний (20 кГц – 100 кГц), який є ефективнішим під час доставки великих молекул (білки, нуклеотиди); терапевтичночастотний (1 МГц – 3 МГц); високочастотний (2 МГц до 16 МГц), що є менш використованим, оскільки застосовується для ЛЗ з молекулярною масою більше 1000 Да (Wong, 2014).

Було доведено, що застосування сонофорезу для посилення трансдермальної доставки гелю на основі флавоноїдів показує кращу протизальну та протинабрякову дію ніж звичайне застосування стероїдів (дексаметазону) (Abreu, Correa, &Alcântara, 2013).

### **1.1.4. Мікроголки**

Сьогодні МГ є найперспективнішим методом трансдермальної доставки. Це є голки, розмір яких вимірюється в мікронах (діаметр декілька сотень мікрон), завдяки чому вони здатні формувати мікроканали в роговому шарі шкіри та

доставляти ліки безболісно, оскільки не дістають до нервових закінчень (Serrano-Castañeda, Escobar-Chavez, & Martinez-Hernandez, 2018). Зазвичай їх з'єднують з пластиром для зручності, створюючи ТП на основі МГ. Це є чудовою альтернативою ін'єкціям не тільки у сфері лікування (вакцинація, цукровий діабет, ожиріння і т.д.), а й досліджень (безболісний забір біологічного матеріалу).

Існує три типи МГ (Li, 2017; AhmedSaeedAl-Japairai, 2020):

1. тверді мікроголки, що використовуються для попередньої обробки шкіри, або тверді мікроголки, вкриті лікарським засобом;
2. порожнисті полімерні мікроголки для доставки рідини в шкіру;
3. пористі мікроголки, просочені молекулярними частинками (що розчиняються або утворюють гідрогель).

Вимогами до мікроголок є

- здатність проходити шкірний бар'єр без їх руйнування та згинання;
- повна ефективність доставки ліків
- геометрична форма голок повинна враховувати ухилення від нервових закінчень;
- матеріал має бути біосумісним та біорозкладним, на випадок якщо голка зламається і залишиться в організмі.

Тому серед матеріалів для виготовлення МГ (кремній, кераміка, метал, полімер, скло) перспективним є використання біорозкладних полімерів (полігліколева кислота, полілактид-ко-гліколідна кислота, полі-L-молочна кислота), або ж природних полісахаридів (декстран, ульван, хітозан, гіалуронова кислота, целюлоза).

Майбутнє за МГ на основі полісахаридів, оскільки вони мають хорошу біосумісність з людським організмом через хімічну схожість з компонентами позаклітинного матриксу, не накопичуються тканинами, а виводяться шляхом метаболізму або через нирки. Вони мають гарні механічні властивості, проникаючу здатність. Хороша здатність до набухання позитивно впливає на вивільнення ліків (Fonseca, Vilela, & Freire, 2019). До прикладу, набухання мікроголок з хітозану призводить до ефекту тривалого вивільнення мелоксикаму в капіляри чи лімфатичні

мережі, якими його буде доставлено в потрібне місце дії. Окрім того, після повного вивільнення ЛЗ самі хітозанові голки організм розщеплює за допомогою лізоциму та виводить (Castilla-Casadiejo, Carlton, & Almodovar, 2021).

Популярними є експерименти лікування цукрового діабету за допомогою мікроголок, що містять в складі ЕПС. Багатообіцяючими є як МГ на основі пулулану, так і на основі альгінату, зшитого з іонами кальцію, з'єднаного з мальтозою. Всі ці модифікації здійснюються задля покращення механічних властивостей. Такі голки не реагують з ЛЗ, показують довготривалий гіпоглікемічний ефект, здатні доставляти молекули як з високою, так і з низькою молекулярною масою (Vora, 2020; Zhang, 2018). Окрім вище перерахованих проривів в лікуванні цукрового діабету, було досліджено альтернативу інсулінової помпи, тільки без болісної інвазії. Створена на базі мікроголоксистема “on/off”, яка швидко реагує на зміни рівня глюкози в крові і контрольовано вивільняє інсулін шляхом оборотної електростатично керованої молекулярної перебудови чутливих до глюкози захисників воріт на наногатах пористих МГ, навантажених інсуліном. Воротарем є тонкий шар хітозануковалентно прикріплений до поверхні МГ, завантажений глюкозо оксидазою і каталазою (Gholami, Zarkesh&Baharvand, 2020).

### **1.1.5. Електропорація**

Також, одним із шляхів покращення трансдермальної доставки є електропорація. Під час цього методу порушується ліпідна структурарогового шару шкіри шляхом впливу на неї коротких імпульсів високої інтенсивності, створюються водні пори, що сприяють покращенню всмоктування ЛЗ з різним розміром молекул через шкіру на потрібний період (Pavšelj, 2015; Chen, 2020; Ita, 2016). Така дія може дорівнювати ефективності внутрішньовенного введення ліків, але без інвазивного втручання та ризику занесення інфекції (Berkó, Szűcs, & Gáspár, 2016). Даний метод може комбінуватися з іншими (мікроголки, іонофорез, УЗ), що збільшує їх ефективність. Комбінація «електропорація+мікроголки» (в якості електрода) є досить популярною, оскільки дає можливість знизити больові відчуття, використовуючи низьковольтну електропорацію навіть в домашніх умовах (Yang,

Zhang, &Gu, 2018). Даний спосіб має місце бути в посилені трансдермальної доставки рН-чутливого гідрогелю на основі пулулану для вивільнення дофаміну (Su, Zhao&Qi, 2020).

### 1.1.6. Шляхи використання полісахаридів у трансдермальній доставці ліків

Було досліджено, які ЕПС для яких методів доставки можуть бути придатними, таким чином пулулан все частіше використовується для виготовлення мікроголок та гідрогелей, що пояснюється його чудовими набухаючими властивостями та порівняно хорошою механічною міцністю (Tian, , 2022; Fonseca, 2020; Vora, 2020; Su, 2020 ). Також, успішно, як складові для мікроголок, використовуються альгінат, хітозан (Arshad, 2020; Castilla-Casadiegos, 2021). Окрім того, хітозан все частіше застосовують для виготовлення ТП, гідрогелей та наночастинок (Radwan-Pragłowska, 2021; Abdel-Hafez, 2018; Abnoos, 2018;). Пулулан, гіалуронова кислота, ксантан не рідко є основами для гідрогелей (Su, 2020; Yuan, 2022; Wang, 2016). Є практика виготовлення наногелю з декстрану (Curcio, Diaz-Gomez, & Alvarez-Lorenzo, 2017). У табл. 1.1.6 наведено узагальнені дані щодо практичного використання полісахаридів для кожного з методів трансдермальної доставки.

Таблиця 1.1.6

| Спосіб трансдермальної доставки ліків | Використовуваний полісахарид    | Походження полісахариду                 | Спосіб використання полісахариду   | література                 |
|---------------------------------------|---------------------------------|---|--|----------------------------|
| <b>Мікроголки</b>                     |                                 |   |  |                            |
| <b>МГ для вакцинації від Грипу</b>    | Пулулан (ПЛ)<br>M = 200–300 кДа | Nayashiba Co., Ltd.<br>(Окаяма, Японія) | Композиція складалась з пулулану та трегалохи у співвідношенні 50:50. Загальна концентрація вуглеводів у композиції становила 15% (маса/об'єм) у фосфатному буфері (рН 7,4, приготований з 7,7 мМ Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> і 2,3 мМ NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ). Для приготування матриці розчинних голок 1 мкг (з 2,5% | Tian, Lee, & Beukema, 2022 |

|   |                           |   |   |   |
|---|---------------------------|---|---|---|
|   |                           |   | (мас./об.) суспензії) і 12,5 мкг (з 31,25% (мас./об.) суспензії) додавали цілий інактивований вірус до 15% (мас./об.) 50:50 трегалози/ суміш пулулану в фосфатний буфер.  |   |
| <b>МГ для введення інсуліну</b>                                   | Пулулан<br>M = 272<br>кДа | B&K<br>Technolo<br>gy Group<br>(Китай)  | <p>40 мкл 24% розчину ПЛ додавали до форми PDMS і центрифугували при 6000 об/хв протягом 30 хв. Після цього приблизно 60 мкл розчину ПЛ поміщали на центрифугований шар і залишали при 30 °С на ніч.</p> <p>Для приготування навантажених інсуліном МГ (кожен пластир ПЛ МГ містить 12,4 МО інсуліну), використовували двоетапний процес лиття.</p> <p>Спочатку інсулін (2,7 мг) розчиняли в 0,3 мл 0,01 М водного розчину HCl і вводили в 24% (мас./об.) розчин ПЛ (0,5 мл). 40 мкл ПЛ з лікарським засобом наносили на форму PDMS як перший шар і центрифугували. Цей крок повторювався двічі. Потім нанесли другий шар ПЛ без інсуліну центрифугування першого шару з наступним центрифугуванням і сушінням розчинником.</p> <p>Пластир ПЛ 24% + інсулін МН обережно відклеювали від шаблонів і поміщали в ексікатор до подальшого використання.</p> | Fonseca, ,<br>Costa, & Freire,<br>2020  |
| <b>ТП на основі розчинних МГ для вивільнення білкових молекул</b> | Пулулан<br>M=200<br>кДа   | <i>Aureobasi<br/>dium<br/>pullulans</i> ,<br>надано<br>компаніє<br>ю<br>Hayashiba<br>ra Ltd<br>(Японія) | <p>Інсулін (20% мас./мас.), розчиняли в 0,1 М розчині HCl, а потім додавали до розчину пулулану.</p> <p>SA-FITC (20% мас./мас.), як високомолекулярний модельний білок із довжиною хвили збудження/випромінювання 480/520 нм, також розчиняли в розчині пулулану.</p> <p>Масиви PL DMN були виготовлені з водного розчину пулулану (25% мас./мас.). 500 мг суміші виливали в сконструйовану лазером силіконову конічну форму 19 × 19. Заповнені форми</p>   | Vora,<br>Courtenay, &<br>Donnelly, 2020 |

|   |   |                                |   |  |
|---|---|--------------------------------|---|--|
|   |   |                                | центрифугували при 2205 × g протягом 15 хв. Масиви сушили при кімнатній температурі протягом 48 годин і зберігали при кімнатній температурі в ексікаторі перед аналізом.  |  |
| <b>Пластирі з МГ, завантажені БЦЖ</b>               | Альгінат натрію                                       | Sigma Aldrich                  | Водний розчин 10% мас./об. альгінату натрію (CS-I) готували за допомогою магнітної мішалки. Для приготування пластирів з мікроголками, заповнених метиленовим синім, додавали 1 мг/мл метиленового синього розливної розчин (10% мас./об.) (CS-II). Третій ливарний розчин (CS-III) містив альгінат натрію і трегалозу.<br>Кожен ливарний розчин поміщали в ультразвуковий апарат на 20 хвилин. Прозорий супернатант переносили в мікроголкову форму з порожнинами у формі піраміди 10x10, кожна з яких мала глибину 300 мкм, і поміщали в ексікатор під вакуумом | Arshad, Fatima, & Ahmad, 2020                  |
| <b>МГ Пірамідальної форми для доставки інсуліну</b> | Альгінат натрію<br>M = 32–250 кДа                     | Aladdin (Шанхай, Китай)        | Порошок альгінату натрію спочатку розчиняли у DI воді у ваговому співвідношенні 1:4 при перемішуванні на водяній бані (60 °C) до отримання однорідного розчину. Потім повільно додавали 15% (мас./мас.) розчин CaCl <sub>2</sub> при швидкому перемішуванні до зшитого альгінату (масове співвідношення CaCl <sub>2</sub> до Alg = 1:10). Для підвищення механічних властивостей композитних мікроголок одночасно до розчину альгінату натрію додавали 15% (мас./мас.) моногідрату мальтози, щоб утворити прекурсор для приготування пасти.                       | Zhang, Jiang, & Xu, 2018                       |
| <b>МГ для доставки мелоксикаму</b>                  | Хітозан (85% деацетильований)<br>M = 1526,464 г/моль) | Alfa Aesar (номер кат. J64143) | Додано 1 г хітозану в 10 мл 10 % оцтової кислоти. Розчин поміщали в нагрівальну пластину при 70 °C протягом 3 год. Розчин хітозан/мелоксикам складався з додавання та змішування 50 мг мелоксикаму в 1 мл розчину хітозану, який використовували для побудови першого шару пластиру.  | Castilla-Casadiego, Carlton, & Almodovar, 2021 |

|  |                              |                          |  |  |
|--|------------------------------|--------------------------|--|--|
| <b>Ієрархічно пористі МГ з динамічним і кришками для доставки інсуліну</b> | хітозан (низькомолекулярний) | Merck Millipore          | Розчиняли 0,5 г хітозану у 50 мл водного розчину оцтової кислоти (3% об./об.) при інтенсивному магнітному перемішуванні, щоб отримати розчин віскози. Далі три аліквоти 20% розчину (3-гліцидилоксипропіл) триметоксисилану (GPTMS) в етанолі (1 мл) додавали до кожної 20 мл аліквоти 1% розчину хітозану для приготування сумішей CS/GPTMS (CSG), 1:1. Суміш витримували одну добу. Потім 60 мкл аліквоти CSG поміщали на матрицю мікроглок, і розчиннику давали випаруватися при кімнатній температурі до висихання.                              | Gholami, Zarkesh, & Baharvand, 2021      |
| <b>Трансдермальні пластирі</b>   |                              |                          |  |  |
| <b>ТП завантажений каннабідіолом</b>                                       | Хітозан Mw = 890 000 г/моль  | <i>Aspergillus niger</i> | хітозан (0,5 г) розчиняли в 30 см <sup>3</sup> розчину вода/пропандіол (1:1), що містив L-аспарагінову та L-глутамінову кислоти (0,5 г; 0,5 г) з 0,5 мас % НЧ ZnO і поставили в мікрохвильову піч (потужність = 800 Вт) на 3 хв. Готові зразки відмивали від неутворених залишків (до рН = 6,5) і ліофілізували. Завантаження каннабідіолу проводили шляхом сорбції різних кількостей 0,5 мг каннабідіолу на 1 см <sup>3</sup> 96% розчину етанолу.  | Radwan-Pragłowska, Janus,& Bogdał, 2021. |
| <b>Носії для ультразвуку, іонофорезу, електропорації</b>                   |                              |                          |  |  |
| <b>Гідрогель для доставки ліків</b>  | Пулулан 500 кДа              | Aladdin                  | Розчин пулулану (200 мг/мл) готували шляхом розчинення пулулану в 50 мл розчину NaOH (1,2 М). Дисперсію волокон PDA готували шляхом розчинення гідрохлорид дофаміну (ДАНС) (60 мг/мл) у розчині NaOH (1,2 М) і окислення при магнітному перемішуванні протягом 24 годин (25 °С). Змішували Pu - 10 мл, PDA- 6 мл, NaOH - 4 . Потім до цієї суміші додавали гідрофільний зшивач PEGDGE – 6 г. Після повного перемішування змішаний розчин поміщали в піч для сухого повітря (30°С, 6 годин) для отримання гідрогелів.<br>Гідро гель замочували у воді | Su, Zhao, & Qi, 2020                     |

|   |   |   |   |                                 |
|---|---|---|---|---------------------------------|
|   |   |   | <p>Milli-Q протягом 4 днів. Свіжоприготований пулулановий гідрогель (PHG) змочували у воді Milli-Q для видалення PEGDGE, що не прореагував. Воду Milli-Q міняли двічі на день протягом одного тижня. Після цього PHG ліофілізували та зважували. Кінцева вага PHG після сублімаційної сушки становила 2,2 г, з яких полісахарид становив 2 г, а PEGDGE становив 0,2 г.</p>  |                                 |
| <p><b>Гідрогель модифікований гіалуроновою кислотою для доставки індометацину</b></p> | <p>Гіалуронова кислота (M &lt;10 кДа)</p> | <p>Freda Biochem Co., Ltd. (Цзінань, Китай)</p> | <p>100,0 мг ГК, 99,6 мг -(3-Диметиламінопропіл)-3-етилкарбодимід гідрохлорид і 59,8 мг N-гідроксисукцинімід розчиняли в 10 мл деіонізованої води і суміш перемішували протягом 6 годин при кімнатній температурі. 71,1 мг Октадециламіну розчиняли в іметілформамід, додавали по краплях у попередній реакційний розчин і перемішували протягом 5 годин при 60 °С. Потім реакцію проводили при кімнатній температурі протягом ще 24 годин. Кінцевий продукт реакції діалізували проти надлишкової кількості деіонізованої води/етанолу (об./об., 1/3, 1/2 та 1/1) протягом 48 годин, потім проводили діаліз проти води протягом 36 годин, а потім збирали шляхом ліофілізації. HA-ODA ідентифікували за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР за допомогою апарату 400 МГц (AVANCE500, Bruker, Карлсруе, Німеччина) при 25 °С.</p> <p>SPC (1,5%, мас./об.), IND (0,5%, мас./об.) і HA-ODA (0,4% мас./об.) розчиняли в хлороформі. Потім розчин випарювали за допомогою роторного вакуумного випарника (RE-52A, Yarong, Шанхай, Китай) при 35 °С для утворення тонкої ліпідної</p> | <p>Yuan, Ni, &amp; Li, 2022</p> |

|  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|
|  |  |  | <p>плівки. Сформовану плівку витримували у вакуумній печі протягом ночі для повного видалення залишків розчинника. Згодом тонку плівку гідратували в деіонізованій воді з дезоксихолатом натрію (0,5%, мас./об.) при 35 °С і обробляли ультразвуком на водяній бані з льодом протягом 5 хв. Отриману трансферсомную суспензію екструдували через мембрану з розміром пор 220 нм. Завантажені IND трансферсоми, що не містять НА–ODA (IND-Ts), були підготовлені аналогічно описаному вище методу.</p>  |  |
| <p><b>Гідрогель для доставки ліків (галола кислота) лікування atopічного дерматиту</b></p> | <p>натрієва сіль гіалуронової кислоти (НА) M = 8000-15000<br/>лактат олігосахариду хітозану M = 5000</p> | <p><i>Streptococcus equi</i> Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Луїс, Міссурі, США)</p> | <p>На першому етапі НА (0,2 г) реагували з EDC-HCl (0,12 г) і NHS(N-гідроксисукцинімід) (0,06 г) у 10 мл PBS (0,01 М, рН 7,4) протягом 30 хв. Потім до реакційної суміші по краплях додавали аланін (0,2 г), розчинений у такому ж об'ємі PBS, і реакцію залишали на 4 години при кімнатній температурі при перемішуванні з подальшим діалізом із застосуванням 3,5-5 кДа фракції діалізної мембрани (Spectrum) проти 100 мМ розчину NaCl протягом 2 днів і деіонізованої води протягом 1 дня. НА-Ala (проміжний продукт) отримували після ліофільної сушки з отриманням твердого порошку 0,23 г (вихід 57,5%) і використовували в наступний крок синтезу.</p> <p>На останньому етапі формування кон'югату твердий зразок НА-Ala (0,2 г) реагував з EDC-HCl (0,12 г) і NHS (0,06 г) у 10 мл PBS (0,01 М, рН 7,4) протягом 30 хв. До реакційної суміші по краплях додавали 0,2 г хітозан(оліго), розчиненого в такому ж об'ємі PBS і реакцію залишали продовжуватися протягом 8 годин при</p> | <p>Chatterjee., Hui &amp; Wang, 2020</p> |

|  |         |               |   |                         |
|--|---------|---------------|---|-------------------------|
|  |         |               | кімнатній температурі з наступним діалізом з використанням діалізної мембрани, що відсікає 3,5-5 кДа, проти 100 мМ розчину NaCl протягом 2 днів і деіонізованої води протягом 1 дня. Сухий твердий порошок (0,36 г, 90,0% вихід) HA-Ala-Chito(oligo) був отриманий після сублімаційного сушіння та зберігається в ексікаторі для подальшого використання. Хімічна структура HA-Ala (проміжний продукт) і кон'югат HA-Ала-Чіто (оліго) визначали за допомогою <sup>1</sup> H-ЯМР в оксиді дейтерію (500 МГц Varian Unity, Inova) та FTIR |                         |
| <b>Гідрогель для вивільнення гентаміцину</b> | Ксантан | Sigma-Aldrich | Одиниці -COOH були введені реакцією між рештою -ОН груп XG(ксантанова камедь) з SA (янтарний ангідрид). XG (3,0 г) реагували з SA (1,5 г) в реакційній колбі в присутності 4-DMAP (0,15 г) як каталізатора при кімнатній температурі. Ця суміш реагувала протягом 48 годин під струменем газоподібного азоту. Отриманий неочищений продукт діалізували проти води milli-Q (2,0 л) за допомогою діалізного мішка (відсікання молекулярної маси 140 000) при 4 °С. Очищений XG-SA був остаточно ліофілізований.                           | Wang, Han, & Chen, 2016 |

|  |                          |                      |   |   |
|--|--------------------------|----------------------|---|---|
| <b>Наногель для внутрішньої доставки ліків (метотрексат)</b> | Декст-ран<br>M = 6000 Да | Leucosost<br>os spp. | <p>Наногелі DEX-SS готували преципітаційною полімеризацією наступним чином. метакрилований декстран (0,2 г), аміноетилметакрилат (100 мг) і N,N'-bis(акрилоїл)цистамін (0,8 г) розчиняли в 25 мл сухого DMSO/CH<sub>3</sub>CN (4:6 об./об.) суміші в круглодонній колбі на 100 мл. Потім додавали 2,2-азоізобутиронітрил (100 мг). Перемішували на (55 об/хв) на масляній бані. Температуру підвищували від 20 до 60 °С 2 години, а потім витримували при 60 °С протягом 24 годин. Отримані частинки відфільтровували, промивали етанолом (100 мл), ацетоном (100 мл) і діетиловим ефіром (100 мл). Сушили під вакуумом протягом ночі при 40 °С. Аліквоти сухих наногелів (50 мг) суспендували дистильованою водою (2 мл), переносили у діалізні трубки та діалізували. Через 24 години середовище вивільнення аналізували за допомогою ВЕРХ, щоб перевірити відсутність будь-яких слідів метакрилового декстрину.</p> <p>Далі необроблені наногелі (0,2 г) занурювали в 3 мл 6,66 мг/мл розчину метотрексату у фосфаті та буферу (10-2 М, рН 7,4) і повільно перемішували при кімнатній температурі. Через 48 годин наногелі були відновлені шляхом фільтрації через мембранні фільтри PTFE (Whatman®, 25 мм, розмір пор 0,2 мкм), отримуючи завантажений метотрексатом гель</p> | Curcio,<br>Diaz-Gomez &<br>Alvarez-Lorenzo,<br>2017 |
|--|--------------------------|----------------------|---|---|

|   |   |                       |  |  |
|---|---|-----------------------|--|--|
| <p><b>Хітозан-альгінатний наносій для транс-дермальної доставки пірфенідону (PFD)</b></p> | <p>Хітозан (CHI) низькомолекулярний Альгінат натрію (SA)<br/>M = 80 000 - 120 000 Да,</p> | <p>Sigma-Aldrich.</p> | <p>Приготування порожніх наночастинок CHI-SA.<br/>Наночастинки CHI-SA були отримані методом попереднього гелеутворення. Базовий розчин SA і CaCl<sub>2</sub> отримували шляхом розчинення 100 мг кожного матеріалу в 10 мл дистильованої води відповідно. Водний розчин CaCl<sub>2</sub> (1 мл) додавали по краплях до 10 мл водного розчину альгінату натрію при перемішуванні протягом 30 хвилин (магнітна мішалка, 300 об/хв). Розчин CHI готували шляхом розчинення 10 мг CHI в 10 мл оцтової кислоти 1% (об./об.) і додавали по краплях в отриманий попередній гель альгінату кальцію при магнітному перемішуванні протягом 1 години, потім кінцевий зразок обробляли ультразвуком протягом 20 хв. Ці наночастинки відокремлюють від водної фази центрифугуванням при 12000 об/хв протягом 30 хв. Висушені наночастинки CHI-SA були отримані методом сублімаційної сушарки.<br/>PFD-навантажені наночастинки CHI-SA готували наступним чином. Розчин PFD готували шляхом розчинення 1 мг PFD в 1 мл дистильованої води. Отриманий лікарський засіб по краплях додавали до розчину SA при безперервному магнітному перемішуванні протягом 1 години. Інші процеси були подібні до синтезу чистих наночастинок CHI-SA.</p> | <p>Abnoos, Mohseni &amp; Mehravi, 2018</p> |
|---|---|-----------------------|--|--|

|  |  |   |   |  |
|--|--|---|---|--|
| <p><b>Наночастинки хітозану для трансдермальної доставки куркуміну</b></p> | <p>Низьком олекулярний (LMW) хітозан</p> | <p>Primex® (Сіглуфй ордур, Ісланді)</p> | <p>Готували розчин хітозану концентрації 0,1% (мас./об.) у 1,5% (об./об.) крижаної оцтової кислоти. Перемішування протягом 30 хв (Heidolph, Schwabach, Німеччина), потім вакуумна фільтрація через 0,45 м фільтра. Для доведення рН розчину хітозану до 4,5, 5,0 і 5,5 використовували 10N розчин NaOH. Твін 80 додавали до розчину хітозану 0,20%, 0,35% і 0,50% (об./об.) концентрації для підвищення розчинності куркуміну. Розчини ТРР 0,0830%, 0,0625% і 0,0500% (w/v) готували та фільтрували через 0,20 мкм фільтр. Розчин готували 1000 г/мл куркуміну в метанолі.</p> <p>Наночастинки були отримані за допомогою іонного гелеутворення. Метод з невеликими модифікаціями для завантаження препарату. Розчин куркуміну додавали в бажаній кількості (0,50, 0,75 або 1,00 мл розчину, що містить 500, 750 або 1000 г куркуміну відповідно) до 10 мл розчину хітозану, що містить Tween 80. Магнітне перемішування було дозволено протягом 10 хвилин, щоб забезпечити однорідний розподіл куркуміну в розчині хітозану. Після цього додавали 4 мл розчину ТРР шприцом з магнітним перемішуванням при 600 об/хв протягом 30 хв. Проводили діаліз композицій протягом 2 год проти деіонізованої води, де діалізну воду замінювали кожні 30 хв. Всі процедури проводилися в темряві.</p> | <p>Abdel-Hafez, Hathout, &amp; Sammour, 2018</p> |
|--|--|---|---|--|

Закінчення таблиці 1.1.6

|  |  |   |  |  |
|--|--|---|--|--|
| <p><b>Плівки для трансдермального вивільнення метотрексату</b></p> | <p>Катіонний крохмаль (6% амілози)</p> | <p>LabGrãos/UFPeI (Pelotas, RS, Бразилія)</p> | <p>Крохмаль (100 мг) розчиняли в дистильованій воді (5 мл) при магнітному перемішуванні (250 об/хв) при кімнатній температурі. Окремо полівініловий спирт (1000 мг) також розчиняли в дистильованій воді (15 мл), залишаючи при магнітному перемішуванні при температурі 80 °С, поки розчин не стане гомогенним. Далі розчини крохмаль і ПВС змішували і гомогенізували при магнітному перемішуванні (100 об/хв) протягом 3 годин при кімнатній температурі. Гомогенний розчин крохмаль /ПВС виливали в чашку Петрі (форма круглої пластини 85 × 10 мм) і розчинник випарювали в духовці при 40 °С протягом 48 годин.</p> <p>55 мг метотрексату додавали до розчину крохмаль /ПВС (20 мл дистильованої води) при обережному перемішуванні (100 об/хв протягом 3 годин) при кімнатній температурі. Кількість метотрексату відповідає 5 мас./мас.% від загальної маси крохмаль /ПВС, використаної для виготовлення плівки. Після гомогенізації розчин крохмаль/ПВС/метотрексат виливали в чашку Петрі і розчинник випарювали.</p> <p>Усі підготовлені плівки очищали дистильованою водою, сушили в печі (50 °С протягом 24 годин) і зберігали в дисекторі перед використанням або характеристикою.</p> | <p>Nornberg, A. B., Martins, &amp; Fajardo, 2022</p> |
|--|--|---|--|--|

Отже, способи трансдермальної доставки ліків можуть бути різноманітними, кожен має недоліки та позитивні моменти, однак, багатообіцяючим є спосіб доставки ліків за допомогою мікроголок, що унеможливує більшість негативних моментів (пошкодження шкіри, больові відчуття, інфікування, проходження ЛЗ через шкірний бар'єр та шлунково-кишковий тракт, що знижує терапевтичний ефект, довгий термін настання дії препарату, необхідність додаткового медичного

обладнання та персоналу зі знаннями, довга біодеградація матеріалів). Але, щоб досягти цього, основа таких мікроголок повинна складатися не з хімічних полімерів, а з природних полісахаридів, які через свої властивості, здатні не тільки розкладатися і виводитися організмом, а й забезпечувати тривале контрольоване вивільнення препарату та не взаємодіяти з ЛЗ .

## **1.2. Технологічні особливості одержання природних полісахаридів для трансдермальної доставки ліків**

Полімери природного походження вже давно показали свої переваги перед синтетичними. Це є нетоксичність, хороша біосумісність, механічна міцність, здатність до набухання, швидкого розкладання, гідрофільність. Все це є перспективним для створення гідрогелей, трансдермальних пластирів, мікроголок, плівок, наночастинок, каркасів. Добувають природні полімери з мікроорганізмів, рослин або тварин (Li, Xiang, Zhang, & Miao, 2022). Залежно до якого царства належить продуцент ЕПС відрізняється і технологія його одержання та застосування, що детально описано в наступних підрозділах.

### **1.2.1. Полісахариди мікробного походження**

Полісахариди мікробного походження можна поділити за біологічними функціями (Schmid, Sieber, & Rehm, 2015):

1. ПС внутрішньоклітинного зберігання;
2. Капсульні ПС
3. Позаклітинні ПС

Для ТДЛ застосовуються позаклітинні або екзополісахариди. Серед досліджених вище полісахаридів можна виділити наступні мікробного походження : пулулан (Chen, Wang, & Xian, 2017), декстран (Pan, Wang, & Zhou, 2022), ксантан (Dai, Gao, & Ma, 2019.), гіалуронова кислота (Pan, Pereira, & Celligoi ,2017), альгінат. Варто зазначити, що альгінат може бути бактеріального походження (*Pseudomonas* і *Azotobacter*) та рослинного (бурі водорості). Відрізняються вони лише тим, що мікробний – має більшу G-довжину ланцюга, тому, є більш жорстким

полімером (Tabernero, & Cardea, 2020). Гіалуронова кислота (ГК), також, окрім прокаріотів, може синтезуватися хребетними тваринами (Schmid, Sieber, & Rehm, 2015).

Існує 4 механізми виробництва ЕПС у мікроорганізмів (Schmid, Sieber, & Rehm, 2015):

1. Wzx/Wzy-залежний шлях (ксантан) – білок фліппаза або Wzx переміщує через цитоплазматичну мембрану повторювані одиниці, які пов'язані з ундекапrenoлдифосфатним якорем, що знаходяться на внутрішній мембрані та збираються декількома глікозилтрансферазами. Білок Wzy виконує їх подальшу полімеризацію в приплазматичному просторі. Тоді готовий ЕПС транспортується на поверхню клітин.

2. Транспортер-залежний шлях АТФ-зв'язуючої касети (більш характерний капсульним ПС) – шлях подібний на попередній. За допомогою глікозилтрансфераз повторювальні одиниці збираються на внутрішній поверхні цитоплазми. Відрізняється експорт та транс локація. Оскільки, ці дії здійснюються за допомогою комплексу, що складається з АВС-рецепторів, які охоплюють внутрішню мембрану, і периплазматичних білків сімейства кополімераз та експорту полісахаридів зовнішньої мембрани.

3. Синтазозалежний шлях (альгінат, целюлоза, ГК) – де процес полімеризації та транс локації залежить від білка-синтази, що може бути субодиницею мультипротеїнового комплексу/

4. Позаклітинний синтез за допомогою одного білка сахарази. Даний механізм характерний для синтезу декстрана, левана.

Однією з необхідних умов їх виробництва є економічність процесу біосинтезу та отримання якісних полісахаридів. Тому, все зводиться до максимальної оптимізації виробництв, а також вибору найменш затратного з них. Найголовнішими моментами є використання максимально дешевого поживного середовища з найбільшим виходом цільового продукту, оптимізація умов ферментації. Часто використовують принцип високого співвідношення вуглецю до азоту (Öner, 2013). Зазвичай, оптимізовані умови процесу біосинтезу та виділення

відрізняються, залежно від продуцента, тому основні моменти було викладено в табл. 1.2.1.

Часто задля економічної вигоди, збільшення виходу ЕПС або зміни молекулярної структури та характеристик полімерів користуються методами генної інженерії. Прикладом генетичних втручань задля збільшення виходу ЕПС може бути пулулан. Щоб досягти максимально можливого виходу біомаси за короткий термін і на дешевшому поживному середовищі, одним із методів оптимізації став індукований мутагенез штаму *Aureobasidium pullulans* CGMCC3.933, який назвали *A. pullulans* UVMU6-1, що продукує низькомолекулярний пулулан. Розведену культуру *Aureobasidium pullulans* CGMCC3.933 тримали під УФ променями 5 хв на відстані 30-60 см. Ці мутаційні суміші 48 год культивували на пластинах YPD при 30 °C і відбирали мутантів з більшим діаметром колоній. Такий мутант виробляв більшу кількість пулулану. Окрім того, було досліджено вплив джерел вуглецю на вихід ЕПС (найкращим є глюкоза, як єдине джерело вуглецю) та факторів впливу (Tween 80, Mg<sup>2+</sup>). Було виявлено, що Tween 80 значно збільшує вихід пулулану, а Mg<sup>2+</sup> немає ніякого впливу (Chen, Wang, & Xian, 2017). Тобто, використовувався комплексний підхід, який допоміг досягти бажаного результату.

Таблиця 1.2.1

### Мікробні полісахариди, використовувані для трансдермальної доставки

| Полісахарид | Продуцент                              | Характеристика полісахариду                              | Субстрат, концентрація | Концентрація синтезованого полісахариду | Спосіб виділення з культуральної рідини  | Літра                    |
|-------------|--|--|------------------------|---|--|--------------------------|
| Пулулан     | <i>Aureobasidium pullulans</i> UVMU6-1 | Пулулан низькомолекулярний, M = 6,699×10 <sup>4</sup> Да | Глюкоза - 740 г/л      | 109 г/л                                 | Супернатант осаджували подвійним обсягом попередньо охолодженого абсолютного етанолу потім витримували при 4°C протягом 12 годин, після чого центрифугували при 8000 об/хв протягом 10 хв. | Chen, Wang, & Xian, 2017 |

|                 |  |   |                                     |                    |   |                         |
|-----------------|--|---|-------------------------------------|--------------------|---|-------------------------|
|                 |  |   |                                     |                    | Осад висушували при 60°C до постійної маси  |                         |
| <b>Декстран</b> | <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> XG5 | це глюкоза бактеріального походження гомо полісахарид, що складається з послідовних $\alpha(1-6)$ зв'язків у головному ланцюзі.   | Сахароза 100 г/л<br>Глюкоза 5,5 г/л | 47,07 г/л          | Супернатант переносили в стерильну конічну колбу і до нього додавали подвійний об'єм абсолютного етанолу. Потім суміш супернатант-етанол інкубували протягом ночі при 4°C для осадження слизу. Потім суміш центрифугували при 12000 об/хв протягом 10 хв при 4°C для видалення слизу. Осад декстрану потім промивали дистильованою водою, центрифугуючи її при 12000 об/хв протягом 10 хв при 4°C тричі. Потім гранули сушили при 80°C за допомогою печі з гарячим повітрям і зберігали при 4°C | Pan, Wang, & Zhou, 2022 |
| <b>Ксантан</b>  | <i>X. campestris</i> CGMCC15155            | нейтральний водорозчинний полісахарид. Розчини ксантану з низькою концентрацією мають високу в'язкість і унікальні псевдопластичні реологічні властивості. $M = 6,8 \times 10^6$ Да | 52,3 г/л сахарози                   | 29,1 $\pm$ 0,4 г/л | До культуральної рідини додавали етанол (в три рази більше об'єму ферментаційного бульйону) і добре перемішували. Потім ксантанова камедь була осаджена, відфільтрована і висушена в печі при 90°C до досягнення постійної маси. Вихід ксантанової камеді розраховували згідно з кількістю ксантанової камеді на літр ферментаційного бульйону після зважування за допомогою прецизійних ваг  | Dai, Gao, & Ma, 2019.   |

|                            |   |  |                               |                         |   |                                |
|----------------------------|---|--|-------------------------------|-------------------------|---|--------------------------------|
| <b>Гіалуронова кислота</b> | <i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i> ATCC 39920 | лінійний полісахаридом, що складається з дисахаридних одиниць (1,4)- $\beta$ -зв'язаної глюкуронової кислоти та (1,3)- $\beta$ -зв'язаного N-ацетилглюкозаміну | М'яса 85,35 г/л <sup>-1</sup> | 2,825 г/л <sup>-1</sup> | Культуральну рідину центрифугували при 9956 g протягом 15 хв. зразки супернатанту культури фільтрували (розмір пор 0,45 мкм, Millipore) і 20 мкл вводили в прилад ВЕРХ (Shimadzu Corporation, Кіото, Японія). | Ran, Pereira, & Celligoi, 2017 |
|----------------------------|---|--|-------------------------------|-------------------------|---|--------------------------------|

### 1.2.2. Полісахариди рослинного походження

Одним з використовуваних полісахаридів для трансдермальної доставки рослинного походження є альгінат (див. табл. 1.1.6). Це є нетоксичний, біосумісний та біорозкладний полісахарид, який має здатність утворювати іонний гель у присутності полівалентних катіонів. Тому, часто використовується для отримання гідрогелей методами іонної взаємодії, ковалентного зшивання, ферментативного зшивання, термічного гелеутворення та зшивання клітин. Також, шляхом іонного зшивання у водних умовах можна отримати гелеві мікросфери (Zhang, Cheng, & Ao, 2021). Яскравим прикладом стало створення багатообіцяючого трансдермального пластиря на основі МГ для доставки інсуліну, які склалися з альгінату, зшитого іонами кальцію та мальтози, що дало можливість створити МГ з найвищою силою руйнування, чудовою цитосумісністю, біодеградацією, а також відсутністю будь-якої взаємодії з інсуліном (Zhang, Jiang, & Xu, 2018).

Особливістю солей альгінової кислоти, що міститься у бурих водоростях, є те, що вони не розчинні у воді, тому необхідно провести декілька етапів маніпуляцій, щоб їх екстрагувати та перетворити на розчинний альгінат натрію (Zhang, Cheng, & Ao, 2021):

1. Обробка формальдегідом (зادля знищення пігментів альгінатів) та обробка розведеною кислотою (видалення проти іонів альгінатів та кислото розчинних домішок, збільшення виходу ПС).

2. Додавання лужного розчину до альгінової кислоти (отримання альгінату натрію водорозчинного).

3. Осадження розчину альгінату натрію додаванням етанолу, кальцію хлориду, розведеної соляної кислоти (зادля подальшого очищення, відділення, сушки та подрібнення).

Вище перераховані технологічні етапи отримання альгінату також описані на конкретному прикладі в табл.1.2.3.

Окрім того, рослинне походження має крохмаль, який в нашому прикладі (табл. 1.2.3) був екстрагований з рису, а далі з нього був синтезований катіонний крохмаль, що має високу розчинність у воді та плівко утворюючі властивості.

Синтезований з нього катіонний крохмаль разом з полвініловим спиртом був використаний для трансдермальних плівок, завантажених метотрексатом, для лікування артриту. Такий крохмаль має властивості запобігання інфільтрації запальних тканин та набряку, утворення грануляційної тканини, що є додатковими перевагами під час дії метотрексату на суглоби. Також ця комбінація полімерів дозволила забезпечити високе навантаження препарату та рівномірний розподіл його у всі шари шкіри шляхом дифузії (Nornberg, Martins, & Fajardo, 2022).

### **1.2.3. Полісахариди тваринного походження**

Полісахаридами тваринного походження є хітозан та глікозаміноглікани. Глікозаміноглікани – це група лінійних полісахаридів, що складається з чотирьох класів : хондроїтину сульфат, гепарин, кератансульфат, гіалуронан (Wang, 2020; Morla, 2019). Варто зазначити, що деякі тваринні ПС можуть синтезуватися і мікроорганізмами (гіалуронан). Одним з найбільш популярних природних ПС, що успішно застосовується в ТДЛ є продукт *N*-деацетилювання хітину – хітозан, через свої антибактеріальні властивості, біосумісність, біорозкладання, здатність до набухання та хімічну міцність. Порівняно краща проникність хітозану пояснюється його здатністю змінювати білкову структуру рогового шару та діяти на щільні з'єднання в зернистому шарі, впливаючи на міжклітинні ліпіди у роговому шарі та збільшуючи вміст води в ньому (Ma, Wang, & Lu, 2022). Така функція створює ефект

тривалого вивільнення ліків, що є досить корисним . Також антибактеріальна дія даного ПС дозволяє мінімізувати ризик інфекцій, або допомогти в їх лікуванні (Castilla-Casadiejo, Carlton,& Almodovar, 2021).

Наразі, намагаються знайти альтернативи використанню хітину та хітозану з ракоподібних через екологічні фактори (постійний вилов цих тварин, особливо в сезон), непостійність фізично-хімічних характеристик такого ПС (через сировину, дію хімічних речовин, мінливість рівнів деацетилювання), можливість білкового забруднення. Тому, як альтернативну сировину для видобутку хітозану вважають і досліджують комах (Ibitoye, Lokman, & Jimoh, 2018). Один із прикладів технологічного отримання хітозану з цвіркуна описується в табл.1.2.3.

Таблиця 1.2.3

### Рослинні та тваринні полісахариди, використовувані для трансдермальної доставки ліків

| Полісахарид | Продуцент   | Характеристика полісахариду   | Спосіб отримання   | Концентрація синтезованого полісахариду | Літ-ра                             |
|-------------|---|---|--|---|------------------------------------|
| Альгінат    | <i>Nizamuddiniana zanardinii</i> (Schiffner) P.C. | аніонні полісахариди, отримані з бурих морських водоростей 1 → 4 зв'язаних мануранової кислоти, І-гулуранової кислот. Молекулярна маса 32–250 кДа | 25 г висушених водоростей замочували при кип'ятінні при кімнатній температурі протягом 24 год у 800 мл 2% (об./об.) формальдегіду для видалення фенольних сполук і пігментів. Після цього нерозчинну фракцію промивали 3 рази водою MilliQ і додавали 800 мл 0,2 М HCL перед тим, як використовувати інкубували при 60°C протягом 3 годин при перемішуванні (250 об/хв). Потім суспензію центрифугували (10000 г протягом 20 хв при 20°C) і гранули з альгіновою кислотою промивали 3 рази водою MilliQ. | -                                       | Khajouei, Keramat, & Michaud, 2018 |

|                |                                       |  |  |   |                                |
|----------------|---------------------------------------|--|--|---|--------------------------------|
|                |                                       |  | Занурювали в 3% (мас./об.) розчин Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> протягом 2,5 годин при 60 °С. Суміш центрифугували (10000 г протягом 30 хв при 20°C) і супернатант осадили 3 об'ємами етанолу 96% (об./об.). Гранули, що містять альгінат натрію, розчиняли у воді MilliQ і осадили етанолом, як описано вище. Цей етап повторювали двічі перед тим, як зібрати та висушити сублімацією альгінат натрію  |   |                                |
| <b>Хітозан</b> | <i>House cricket (B. portentosus)</i> | Модифікований азотом полісахарид, що складається з N-ацетилглюкозаміну, зв'язаного β-(1-4)-N-ацетил-d-глюкозаміновими зв'язками. За будовою дуже схожа на целюлозу; але він має додаткову аміногрупу та гідроксильний замісник на кожному мономері | Для депротейнізації 20 г висушеного цвіркуна обробляли 200 мл (тобто співвідношення зразок-NaOH 1:20) 1М розчину NaOH при 95 °С протягом 6 годин. Потім його фільтрували через сито 100 меш і промивали дистильованою водою до досягнення нейтрального рН дистильованої води. Для демінералізації депротейнізований зразок потім обробляли в такому ж співвідношенні 200 мл 1 г/100 мл щавлевої кислоти протягом 3 годин при кімнатній температурі з помірним перемішуванням, потім фільтрували за допомогою 100 сітчастого сита та промивали дистильованою водою до досягнення нейтрального рН дистильованої води. Потім зразок змішували з 200 мл 1% розчину гіпохлориту натрію (1%, мас./об.) при кімнатній температурі протягом 3 годин із помірним перемішуванням для знебарвлення, фільтрували за допомогою сита 100 меш і | - | Ibitoye, Lokman, & Jimoh, 2018 |

|                           |   |  |   |   |                                    |
|---------------------------|---|--|---|---|------------------------------------|
|                           |   |  | промивали дистильованою водою до нейтрального рН. Усю послідовність повторювали ще раз. Зразок сушили протягом ночі при 60 °С і реєстрували суху масу. Потім хітозан очищали шляхом деацетилювання зразка хітину  |   |                                    |
| <b>Катіонний крохмаль</b> | - | Катіонний крохмаль є похідним крохмалю з позитивно зарядженими групами в його скелі, який зазвичай синтезується реакцією природного крохмалю з реагентами, що містять амінні, імінні, сульфонієві, фосфонієві або четвертинні амонієві групи | сирий крохмаль (1,5 г) розчиняли в деіонізованій воді (50 мл) у реакторі, а потім додавали NaOH (10 г). Систему переміщували до однорідності суміші. Потім додавали СНРТАС (1,85 г) і доводили рН розчину до рН 12 за допомогою розчину NaOH (1 моль л <sup>-1</sup> ). Реакцію підтримували при перемішуванні (300 об/хв) при 60 °С на масляній бані. Через 24 години реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і катіонний крохмаль осаджували етанолом (100 мл). Пізніше катіонний крохмаль рекуперували шляхом вакуумної фільтрації, нейтралізували HCl (1 моль L <sup>-1</sup> ), і двічі промивають етанолом для видалення хімічних речовин, що не прореагували. Очищеному катіонному крохмалю давали висохнути в духовці при 50 °С (протягом ночі) | - | Gularte, Quadrado, & Fajardo, 2020 |

Існує досить багато рослинних, тваринних та мікробних полісахаридів, які придатні для всіх способів трансдермальної доставки. Але вибір, зазвичай, падає на мікробні полісахариди, оскільки, процес біосинтезу можна контролювати, регулювати параметри та оптимізувати. Маючи культуру, ми не залежимо ні від клімату, ні від сезону, ні від локації. Часто ПС тваринного чи рослинного походження можуть викликати алергію у пацієнта (зазвичай, морепродукти з яких добувають хітозан). Також, екстракції ПС з рослин чи тварин буває недостатньо,

вони часто потребують додаткових модифікацій, хімічних оброблень, що може спричинити їх нестабільність. Тому, вчені також зосереджені на пошуку мікроорганізмів, які здатні синтезувати аналогічні ПС.

## РОЗДІЛ 2

### ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛЗ

#### 2.1. Аналіз фармакологічних властивостей цільового ЛЗ

Найбільшої популярності на сьогодні набувають трансдермальні пластири на основі мікроголок, оскільки з їх допомогою можливо подолати шкірний бар'єр і доставити доволі великий спектр лікарських препаратів до кровоносних судин, не викликаючи болю, кровотечі (Li Z, Fang X, Yu D, 2021). Крім того, завдяки полісахаридам, створено біорозкладні мікроголки, що розчиняються під час вивільнення діючої речовини, не викликаючи побічних реакцій на кшталт чутливості, запалення, алергічної реакції (Rabiei, Kashanian, & McInnes, 2020)

Останніми ми перспективними напрацюваннями були механічно стійкі, не цитоксичні МГ з пуллулану для доставки інсуліну, що включали в себе препарат без змін у його вторинній структурі (87% інсуліну вивільнялося під шкіру протягом перших 120 хвилин). Пулулан має хорошу механічну міцність, біосумісність, безпечну біодеградацію. Також, враховуючи, що це полісахарид, який можна отримати з мікроорганізма, процес буде в рази економнішим та простішим ніж при екстракції рослинного чи тваринного полімера (Fonseca, Costa, & Freire, 2020)

Станом на 2021 рік, в Україні цукровим діабетом страждають 2325000 осіб (вибірка 20-79 років) за даними 10-го видання Diabetes Atlas Міжнародної діабетичної федерації (Idf.org). Кількість смертних випадків, спричинених цією хворобою, становить 58126.

Як відомо, цукровий діабет поділяється на два типи : перший тип - інсулінозалежний та другий - інсулінорезистентний, лікування якого може обмежуватись пероральним прийомом антидіабетичних препаратів, фізичними вправами та дієтою (Acharjee, Ghosh, & Nair, 2013).

|           |               |   |        |      |   |             |       |         |
|-----------|---------------|---|--------|------|---|-------------|-------|---------|
|           |               |   |        |      | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ  |             |       |         |
|           |               |   |        |      |   |             |       |         |
| Зм        | Арк.          | № | Підпис | Дата | РОЗДІЛ 2. ТЕХНІКО-<br>ЕКОНОМІЧНЕ<br>ОБГРУНТУВАННЯ<br>ВИРОБНИЦТВА ЛЗ | Літера      | Аркуш | Аркушів |
| Розробник | Степенко А.В. |   |        |      |   |             | 36    | 150     |
| Керівник  | Пирог Т.П.    |   |        |      |   |             |       |         |
| Н. контр  |               |   |        |      |   |             |       |         |
| Консульт  |               |   |        |      |   |             |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П |   |        |      |   | Кафедра БТМ |       |         |

Обидва варіанти є небезпечними для здоров'я, так як здатні викликати невідкладні стани (гіпо- та гіперглікемічна кома), ненадана допомога при яких може дорівнювати смерті. Цукровий діабет першого типу є автоімунним захворюванням, який заключається в руйнуванні Т-клітинами Бета-клітин на острівцях Лангенгарса підшлункової залози, через що порушується синтез та секреція інсуліну. Лікування такого діабету потребує щоденне вимірювання рівня глюкози (здійснюється інвазивним шляхом) та введення необхідної дози інсуліну підшкірно (Akil, Yassin, & Fakhro, 2021). Ці маніпуляції здійснює сам пацієнт протягом всього свого життя. І це спричинює максимальний дискомфорт, оскільки постійне проколювання шкіри може супроводжуватись занесенням інфекції (інфільтрати), ліподистрофіями, болям (Nagesh, & Kalra, 2015). А найгіршим є неправильне дозування інсуліну, що може спричинити смерть. На сьогодні альтернативою є інсулінова помпа, яка сама вимірює рівень глюкози і робить ін'єкції (Karges, Schwandt, & Holl, 2017). Але все-таки больові відчуття і ускладнення, що зв'язані з проколюванням шкіри, залишаються. Тому нашою цілю є створення трансдермального пластира на основі мікроголок, який унеможливить глибоку і болісну інвазію шкіри, але буде постачати підшкірно інсулін. Це є особливо актуальним, оскільки, за даними 2022 року Міжнародної діабетичної федерації, кількість хворих на ЦД 1 в Україні типу становить 128 701 осіб, 32 093 (приблизно 25 %) з яких діти, підлітки та молодь до 20 років, для яких постійні ін'єкції є досить важким психологічним фактором (Ogle, Wang, & Maniam, 2022).

Трансдермальні пластири на основі пірамідальних мікроголок виготовляли шляхом лиття розчину пулулану на матриці з силікону (полідиметилсилоксану). Пулулан розчиняли у надчистій воді при постійному перемішуванні протягом ночі для отримання концентрації 24%. Проводили вимірювання густини та динамічної в'язкості розчину ротаційним приладом SVM3000 Anton Paar. Навантаження пластиру інсуліном (12,4 МО) відбувалося двоетапним методом лиття. Таким чином, 2,7 мг інсуліну розчиняли в 0,3 мл 0,01 М водного розчину HCl і додавали в 0,5 мл 24% -го розчину пулулану. Потім створювали перший шар: 40 мкл пулулану з інсуліном наносили на силіконову матрицю центрифугували при 6000 об/хв

протягом 30 хвилин задля остаточного заповнення розчином пулулану пірамідальних отворів матриці. Цю маніпуляцію повторювали два рази. Далі на цей відцентрифугований шар додавали 60 мкл розчину пулулану, знову центрифугували і залишали на ніч при 30 °С. Наступним кроком було відклеювання мікроголкового пластира з пулулану, що містив інсулін від матриці, який поміщали в ексікатор. Такий пластр вже перші 120 хв вивільняє 87 % інсуліну. Тобто, одного такого девайса вистачає на 1 день. Враховуючи, що інсулін діабетикам 1-го типу потрібен кожен день, кількість необхідних пластрів на рік становить 365 шт.

Отже, для одного пластри (розмір 8×8 мм<sup>2</sup>, масиви 15×15, висота голки 550 мкм, основа голки 200 мкм, крок голки 500 мкм) нам необхідно 0,04+0,04+0,06+0,5 = 0,64 мл 24% розчину пулулану, тобто  $(0,64 \times 24) / 100 = 0,1536 \approx 0,15$  г пулулану.

Визначимо потребу в необхідній кількості пулулану для виробництва трансдермальних пластрів на основі мікроголок, завантажених інсуліном для осіб, що страждають діабетом 1 типу. Оскільки, для введення інсуліну як для дорослих, так і для дітей використовується однакова форма пластира, яка містить однакову кількість пулулану, то потребу рахуємо від загальної кількості хворих. Всього потреба в пулулані становить:

$$П = 1 \text{ доза} \times 365 \text{ днів} \times 0,15 \text{ г пулулану} \times 128701 \text{ хворих} = 7046379,75 \text{ г} \approx 7046 \text{ кг.}$$

*Таблиця 2.1*

**Розрахунок річної потреби у пулулані для виробництва навантажених інсуліном трансдермальних мікроголок**

| <b>Категорії хворих</b> | <b>Вміст пулулану в одній дозі, г</b> | <b>Кількість прийомів доз на добу</b> | <b>Тривалість лікування, діб</b> | <b>Кількість хворих в Україні на 2022 рік</b> | <b>Кількість пулулану для лікування всіх хворих, кг</b> |
|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---|---|
| Дорослі та діти старше  | 0,15 г                                | 1                                     | 365                              | 96608   | 5289  |

|                  |        |   |     |       |      |
|------------------|--------|---|-----|-------|------|
| 12 років         |        |   |     |       |      |
| Діти до 12 років | 0,15 г | 1 | 365 | 32093 | 1757 |
| Всього           | -      | - | -   | -     | 7046 |

## 2.2. Обґрунтування форми випуску лікарського засобу

### 2.2.1. Обґрунтування форми випуску лікарського засобу

Станом на 2023 рік лікування цукрового діабету першого типу (інсулінозалежний) за допомогою інсуліну можливе різноманітними методами :

1. Ін'єкції інсуліну у підшкірно-жирову клітковину – стандартний метод, проведений роками, що має ряд недоліків: інфільтрати та ліподистрофії у місці введення ліків, неправильне дозування інсуліну, болісні відчуття (Liu, Shan, & Hu, 2020).

2. Глюкозочутливі пристрої (інсулінові помпи, катетери) – є альтернативою ін'єкціям, забезпечує правильне дозування залежно від виміряного рівня глюкози в крові, пацієнт не повинен контролювати «Де?» і «Коли?» він повинен ввести інсулін. Але біль та неприємні відчуття зберігаються, що для пацієнтів, а, особливо, дітей із цією хворобою, зменшує якість життя (Власенко, Давтян, & Гладишев, 2023).

3. Пероральний метод – капсула, що містить мікроголки заповнені інсуліном, які вивільняють його, прикріплюючись до стінки шлунка. Далі ці голки витягаються зі шлунка після ін'єкції. Також, існує інсулінова капсула Oramed. Що включає видоспецифічний інгібітор протеази, який захищає активні інгредієнти, а також потужний підсилювач абсорбції інсулін. Недоліком є негативна дія на шлунок під час тривалого споживання. А таким пацієнтам потрібно вживати інсулін протягом всього життя(Власенко, Давтян, & Гладишев, 2023)..

4. Інгаляційний метод – за допомогою інгалятора, що містить інсуліновий картридж, препарат доставляється до легень. Такий метод не забезпечує стабільний

необхідний рівень інсуліну в крові, а також існує ймовірність розвитку раку легень(Liu, 2020; Власенко, 2023 ).

5. Трансдермальні мікроголки – розміри таких мікроголок здатні досягти капілярної системи шкіри, щоб доставити необхідну кількість препарату у кров'яне русло, оминаючи нерви, що унеможлиблює больові відчуття (Economidou, Lamprou, & Dougoumis, 2018).

Проаналізувавши інноваційні та стандартні способи доставки інсуліну для людей, хворих на цукровий діабет, можна зробити висновок, що найкращою формою лікарського засобу є трансдермальний пластир на основі мікроголок, заповнених інсуліном. Оскільки немає серйозних ризиків побічних ефектів на організм людини.

### **2.2.2.Обґрунтування вибору первинної та вторинної упаковки лікарського засобу**

Трансдермальний пластир на основі мікроголок має мінімальні параметри: розмір  $8 \times 8$  мм<sup>2</sup>, масиви  $15 \times 15$ , висота голки 550 мкм, основа голки 200 мкм, крок голки 500 мкм.

Первинна упаковка для даного пластиру повинна забезпечувати стабільність усіх якісних та кількісних характеристик активного фармацевтичного інгредієнта, фармакотехнологічних параметрів лікарської форми, технологічність стадії фасування, надійність транспортування, зберігання, придатність до застосування, а також позитивно впливати на економічні показники генеричного лікарського засобу, згідно Настанови 352 42-3.0:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ІСН 08)». Відповідати таким умовам можуть наступні види первинного пакування (Ямнюк, 2018):

Блістери - це контурно-чарункове пакування, яке виконане з полімерної плівки та фольги алюмінієвої, та схоже за формою твердого лікарського засобу (пластир). Створює захист від потрапляння вологі, забруднень та пошкоджень.

Стріп – контурне гнучке безчарункове пакування пакування з продукцією медичного призначення, яка витягується шляхом розриву упаковки або її розриву.

Для трансдермального пластиру на основі мікроголок маленького розміру можуть підійти обидва способи пакування, також, зважаючи, що для хворого таких пластирів необхідно 365 на рік, тобто  $\approx 30$  на місяць, зручніше скористатися блістерною упаковкою, але спосіб відкриття повин бути не шляхом вдавлювання (для запобігання пошкодження лікарського засобу), а шляхом відшарування фольги від каркасу.

Дослідження, що порівнювало результати зберігання трансдермального пластиря на основі мікрорголок у фользі Protect™ 470, поліефірній фользі та пластиковій упаковці, показало, що перший варіант найкраще зберігає продукт від вологи та різких коливань температур, що дозволяє транспортувати у країни з різним кліматом (McAlister, Kearney, & Donnelly, 2021). Тому, каркас та карта (підставка на якій розміщується) будуть виготовлятися з фольги Protect™ 470.

Роль вторинної упаковки, що захищатиме первинну, а також міститиме листок-вкладиш з інструкцією до лікарського засобу, виконуватиме паперова коробка, що вміщатиме в собі від одного до трьох блістерів, та матиме на собі додаткову інформацію (назва, штрихкод, дата виготовлення та терміну придатності, склад, дозування).

### **2.3. Обґрунтування вибору біологічного агенту для отримання субстанції для інженерної частини роботи**

Порівняємо продуцентів описаних вище (табл. 1.2.1 та 1.2.3).

Модифікація продуцента ксантанової камеді дозволила знизити її собівартість через зменшення в 7 разів кількості етанолу, що необхідна для виділення камеді з ферментаційного бульйону диких видів *Xanthomonas campestris* CGMCC 15155 та видалення домішок ксантомонадину. Модифікували шляхом вставки гена глобіну *Vitreoscilla* (*vgb*) під контролем промотору LacZ в ділянку гена *pigA*, який бере участь у синтезі ксантомонадину, результаті чого виробляється біла ксантанова камедь (Dai, X., Gao, G., & Ma, T, 2019). Але умовна собівартість продукту є порівняно дорогою з іншими полісахаридами (табл. 2.3.3).

Також, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* ATCC 39920 має здатність рости на не складному поживному середовищі, де джерелом вуглецю є м'ясо. Окрім того на такому середовищі продуцент синтезує гіалуронову кислоту, яка має антиоксидантні властивості та може використовуватись в лікувальних та косметологічних цілях. При рН 8 кількість виділеного екзополісахариду зростає у 2.86 разів. Хоча для виділення даного полісахариду таке поживне середовище рахується не дорогим, та в порівнянні з іншими, наведеними нижче продуктами, ГК поступається їм через свою умовну вартість (47,30 грн/ г) (Pan, N. C., Pereira, H. C. B., & Celligoi, M. A. P. C., 2017) .

Продуцент декстрану *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 окрім синтезу самого полісахариду має антиоксидантну здатність, але потребує найдорожчого поживного середовища, тому й сам продукт вийде доволі дорогим, але нічим не кращий, наприклад, за дешевий низькомолекулярний пуллулан для виробництва трансдермального носія (Pan, L., Wang, Q., & Zhou, Z., 2022).

Перспективним є продуцент екзополісахариду пуллулану. Внаслідок УФ випромінювання на відстані від 30 до 60 см протягом 5 хв гриба *Aureobasidium pullulans* CGMCC3.933 утворюється мутант *A. pullulans* UVMU6-1, який синтезує низькомолекулярний полісахарид на дешевому поживному середовищі у великій кількості, яку можна використовувати у промислових масштабах (Chen, G., Wang, J., & Xian, M., 2017). Саме тому цей продуцент і екзополісахарид обираємо для подальшого дослідження і виробництва трансдермального носія ліків.

## Особливості культивування продуцентів екзополісахаридів для трансдермальної доставки ЛЗ

| Біологічний агент                                 | Склад поживного середовища   |  | Тривалість культивування, год | Концентрація синтезованого полісахариду, г/л | Особливості процесу біосинтезу  | Використана література  |
|---|--|--|-------------------------------|--|---|---|
|   | компонент  | Концентрація, г/л                            |                               |  |   |   |
| 1   | 2  | 3  | 4                             | 5  | 6   | 7   |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> UVMU6-1 (пуллулан) | Глюкоза<br>Дріжджовий екстракт<br>Пептон<br>K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub><br>NaCl<br>MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub><br>Tween 80 | 740<br>10<br>20<br>5<br>1<br>0,6<br>0,6<br>4 | 114                           | 109  | T = 30 °C<br>pH = 4<br>(додавання Tween 80 на 96 годині)<br>Швидкість перемішування = 180 об/хв.<br>Швидкість аерації = 1,5 | Chen, G., Wang, J., Su, Y., Zhu, Y., Zhang, G., Zhao, H., ... & Xian, M. (2017). Pullulan production from synthetic medium by a new mutant of <i>Aureobasidium pullulans</i> . <i>Preparative Biochemistry and Biotechnology</i> , 47(10), 963-969. |

|  |   |                                     |    |       |   |  |
|--|---|-------------------------------------|----|-------|---|--|
|  |   |                                     |    |       | л/хв.<br>Тиск кисню =<br>20%<br>Періодична<br>ферментація з<br>підживленням<br>70 % (мас./об.)<br>глюкози   |  |
| <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> XG5<br>(декстран) | Глюкоза · Н <sub>2</sub> О,<br>Сахароза<br>Триптон<br>Яловичий<br>екстракт<br>Дріжджовий<br>екстракт<br>К <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub> | 5,5<br>100<br>10<br>10<br>5<br>2,62 | 42 | 40,07 | Т = 25 °С<br>рН = 7<br>перемішування<br>= 100 об/хв.<br>Через 12 годин<br>порційного<br>бродиння<br>додають | Pan, L., Wang, Q., Qu, L.,<br>Liang, L., Han, Y., Wang,<br>X., & Zhou, Z. (2022).<br>Pilot-scale production of<br>exopolysaccharide from<br><i>Leuconostoc</i><br><i>pseudomesenteroides</i> XG5<br>and its application in set |

|   |   |                                |    |            |  |  |
|---|---|--------------------------------|----|------------|--|--|
|   | ·3H <sub>2</sub> O<br>натрію ацетату<br>безводного<br>Триосновий<br>цитрату амонію<br>MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O<br>MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O<br>Tween 80 | 5<br>2<br>0,58<br>0,25<br>1 мл |    |            | сахарозу   | yogurt. <i>Journal of Dairy Science</i> , 105(2), 1072-1083.   |
| X.<br><i>campestris</i> CG<br>MCC15155<br>(ксантан) | Сахароза<br>Соєвий пептон<br>Карбонат<br>кальцію  | 52,3<br>4<br>4                 | 66 | 29,1 ± 0,4 | T = 30 °C<br>pH = 7<br>швидкість<br>перемішування<br>= 400 об/хв<br>ротягом<br>перших 24 | Dai, X., Gao, G., Wu, M.,<br>Wei, W., Qu, J., Li, G., &<br>Ma, T. (2019). Construction<br>and application of a<br><i>Xanthomonas campestris</i><br>CGMCC 15155 strain that<br>produces white xanthan |

|  |   |                                  |    |       |  |   |
|--|---|----------------------------------|----|-------|--|---|
|  |   |                                  |    |       | годині 600<br>об/хв протягом<br>наступних 42<br>годин<br>швидкість<br>аерації = 0,4<br>vvm<br>підживлення<br>сахарозою на<br>33 годині | gum. <i>Microbiologyopen</i> , 8(2), e00631.  |
| <i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i><br>ATCC 39920 | М'яса<br>Дріжджовий<br>екстракт<br>K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub><br>NaCl<br>MgSO <sub>4</sub> | 85,35<br>50<br>2,5<br>2,0<br>1,5 | 24 | 2,825 | T = 37 °C<br>pH = 8<br>швидкість<br>перемішування<br>= 100 об/хв<br>швидкість  | Pan, N. C., Pereira, H. C. B., da Silva, M. D. L. C., Vasconcelos, A. F. D., & Celligoi, M. A. P. C. (2017). Improvement production of hyaluronic |

Закінчення таблиці 2.3.1

|  |  |  |  |  |  |   |
|--|--|--|--|--|--|---|
|  |  |  |  |  | <p>аерації = 0,5<br/>vvm<br/>Підживлення<br/>мелясою кожні<br/>8 годин</p> | <p>acid by Streptococcus<br/>zooepidemicus in sugarcane<br/>molasses. <i>Applied<br/>biochemistry and<br/>biotechnology</i>, 182, 276-<br/>293.</p> |
|--|--|--|--|--|--|---|

Нажаль, не всі статті повністю розкривають технологію і не вказують про особливість підживлення, тому для таких випадків було прораховано кількість джерела вуглецю, необхідну для порційного додавання, щоб отримати зазначену кількість виходу біомаси.

### **Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 – продуцента декстрану**

Оскільки в статті (Pan, L., Wang, Q., & Zhou, Z., 2022) не вказана кількість біомаси *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5, що продукує декстран, розрахуємо теоретично можливий рівень біомаси за концентрацією джерела азоту в ПС. Таким джерелом є  $C_6H_{17}N_3O_7$  в кількості 2 г/л.  $M(C_6H_{17}N_3O_7) = 243$  г/моль. У 243 г триосновного цитрату амонію міститься 42 г елементного азоту, а в 2 г цієї речовини вміст азоту складає  $(2 \times 42) / 243 = 0,35$  г. Вміст азоту в біомасі бактерії складає 10-14 % від маси сухої речовини. Тоді з 0,35 г азоту можна одержати 3,5 г/л біомаси.

Концентрація декстрану в культуральній рідині становить **40,07** г/л, кількість біомаси 3,5 г/л при тривалості культивування 42 години.

### ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення***

*Потреби для синтезу декстрану.* Джерелом вуглецю для декстрану є сахароза ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ). Розрахуємо, яка кількість вуглецю (за елементом С) міститься в 40,07 г/л декстрану. Оскільки точний вміст Карбону у молекулі декстрану ( $M = 6000$  Да) неможливо розрахувати, приймаємо що вміст Карбону у складі декстрану, як і у всіх інших органічних сполуках, становит 50 %. Тоді,  $40,07 \times 0,5 = 20$  г.

Розрахуємо у скількох грамах сахарози міститься 20 г Карбону.  $M(C_{12}H_{22}O_{11}) = 342,3$  г/моль. З 342,3 г сахарози 144 г – Карбон. Тоді 20 г Карбону міститься в у  $(20 \times 342,3) / 144 = 47,5$  г сахарози.

Оскільки при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах, близько 40 % субстрату окиснюється до  $CO_2$  для одержання енергії необхідної для конструктивного метаболізму, то вміст сахарози у ПС  $(47,5 \times 0,4) + 47,5 = 66,5$  г /л

*Потреби для синтезу біомаси.* Якщо біомаса на 50% складається з Карбону, тоді у 3,5 г/л біомаси міститься  $3,5 \times 0,5 = 1,75$  г Карбону. Ця кількість складає  $(1,75 \times 100) / 40 = 4,4$  г вуглеводів.

У перерахунку на сахарозу це становить 8,8 г/л. Врахуємо 40% втрат субстрату на «холосте окислення», тоді, щоб отримати 3,5 г/л біомаси в ПС потрібно внести  $(8,8 \times 0,4) + 8,8 = 12,32$  г/л сахарози.

Отже, загалом, кількість сахарози в ПС, необхідна для синтезу 3,5 г/л біомаси і 40,07 г/л декстрану складає  $66,5 + 12,32 = 78,8$  г/л.

В статті (Pan, L., Wang, Q., & Zhou, Z., 2022) ж описується внесення 100 г/л сахарози. Але на початку культивування вноситься максимум 60 г/л, а інші 40 г/л в якості підживлення за для недопущення катаболічної репресії продуцента.

В дослідженні (Pan, L., Wang, Q., & Zhou, Z., 2022) вказано, що підживлення (внесення 40 г/л сахарози) здійснювалось тільки один раз через 12 год культивування.

### **Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму *X. campestris* CGMCC15155**

#### **– продуцента ксантану**

Тривалість культивування 66 год, концентрація біомаси 2,5 г/л, концентрація ксантану 29 г/л.

*Потреби для синтезу ксантану.* Оскільки, вміст вуглецю в усіх органічних сполуках відповідає 50 %, а через малу молекулярну масу ксантану ми її визначити не можемо, тоді  $29 \times 0,5 = 14,5$  г Карбону міститься в полісахариді.

Розрахуємо, скільки вуглецю міститься в 14,5 г ксантану. Джерелом вуглецю в ПС для синтезу ксантану є сахароза. Молекулярна маса  $C_{12}H_{22}O_{11}$  становить 342 г/моль. Кількість карбону в цій речовині складає 144 г, а в 29 г ксантану ця кількість складає  $(14,5 \times 342) / 144 = 34,4$  г. Врахуємо 40 % субстрату, що йде на «холосте окислення», тоді необхідна кількість сахарози в ПС становить  $(34,4 \times 0,4) + 34,4 = 48,2$  г/л.

*Потреби для синтезу біомаси.* Біомаса складається на половину з карбону, тоді в 2,5 г/л біомаси міститься 1,25 г Карбону. Така кількість Карбону міститься в

$(1,25 \times 342) / 144 = 2,9$  г сахарози. У середовище необхідно внести  $(2,9 \times 0,4) + 2,9 = 4,1$  г /л сахарози, з урахуванням 40% субстрату, що йдуть на конструктивний метаболізм.

Загальна кількість сахарози для отримання 2,5 г/л біомаси і 29 г/л ксантану становить  $4,1 + 48,2 = 52,3$  г /л.

В статті (Dai, X., Gao, G & Ma, T. ,2019) кількість сахарози для забезпечення виходу такої кількості продукту замала (40 г/л). Тому пропонуємо додати 12,3 г/л сахарози в якості підживлення. Таку кількість можна внести одночасно на 33 годині культивування.

### **Перевірочний розрахунок складу поживного середовища для вирощування штаму *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* ATCC 39920– продуцента гіалуронової кислоти**

Концентрація біомаси = 6,22 г/л, а концентрація ГК в культуральній рідині становить **2,826** г/л при тривалості культивування 24 годин.

#### ***Розрахунок вмісту в середовищі джерела вуглецевого живлення***

*Потреби для синтезу ГК.* Джерелом вуглецю для ГК є м'яса. Розрахуємо, яка кількість вуглецю (за елементом С) міститься в 2,826 г/л ГК. Оскільки точний вміст Карбону у молекулі ГК ( $M < 10$  кДа) неможливо розрахувати, приймаємо що вміст Карбону у складі ГК, як і у всіх інших органічних сполуках, становить 50 %. Тоді,  $2,826 \times 0,5 = 1,4$  г.

Розрахуємо у скількох грамах вуглеводів міститься 1,4 г Карбону, якщо вміст Карбону у вуглеводах м'яси становить 40 %. Тоді 1,4 г Карбону міститься у  $(1,4 \times 100) / 40 = 3,5$  г вуглеводів.

Так як у м'ясі міститься 50% вуглеводів, тоді для отримання ГК вміст м'яси в ПС має бути  $3,5 \times 2 = 7$  г/л. Але оскільки при вирощуванні мікроорганізмів на вуглеводах, близько 40 % субстрату окиснюється до  $CO_2$  для одержання енергії необхідної для конструктивного метаболізму . вміст м'яси в ПС має бути  $(7 \times 0,4) + 7 = 9,8$  г/л.

*Потреби для синтезу біомаси.* Оскільки біомаса на половину складається з Карбону , то 6,22 г біомаси містить в собі  $6,22 \times 0,5 = 3,11$ г Карбону. Ця кількість міститься у  $(3,11 \times 100) / 40 = 7,8$  г вуглеводів. У перерахунку на м'ясу це становить

15,6 г/л. Врахуємо 40% втрат субстрату на «холосте окиснювання». Тоді для отримання 6,22 г/л біомаси у ПС необхідно додати  $(15,6 \times 0,4) + 15 = 21,24$  г/л меляси.

Тоді загальний вміст меляси у середовищі, що покриє синтез біомаси 6,22 г/л і продукцію ГК 2,826 г/л, складає:  $9,8 + 21,24 = 31,04$ .

В статті концентрація меляси наведена майже в 1,5 рази більша (85,35 г/л). Однозначно таку кількість меляси одночасно вносити не можемо, через можливість явища катаболічної репресії і збільшення лаг-фази, тому початковою концентрацією джерела вуглецю буде 31 г/л меляси, а інші 54 г/л необхідно вносити дробно для підживлення.

Розрахуємо умови підживлення. Для цього нам необхідно внести 54 г/л меляси протягом 24 годин. Прийmemo, що підживлення в ПС вноситься кожні 8 годин. Кількість порцій підживлення становить  $(24-8)/8 = 2$ . Тоді кожна порція підживлення становить  $54/2 = 27$  г/л меляси.

Таблиця 2.3.2

#### Вартість поживних середовищ для культивування продуцентів біомаси

| Продуцент                              | Компонент поживного середовища  | Концентрація у ПС, г/л | Ціна компонента, грн/кг | Вартість компонента (грн) на 1 л середовища | Джерело інформації (1, 2, 3)* |
|--|---------------------------------|------------------------|-------------------------|---|-------------------------------|
| 1                                      | 2                               | 3                      | 4                       | 5   | 6                             |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> UVMU6-1 | Глюкоза                         | 740                    | 52                      | 38,50                                       | 1                             |
|  | Дріжджовий екстракт             | 10                     | 1100                    | 11  | 2                             |
|  | Пептон                          | 20                     | 987,52                  | 19,75                                       | 3                             |
|  | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 5                      | 60                      | 0,3   | 4                             |

## Продовження таблиці 2.3.2

|  |  |      |          |       |    |
|--|--|------|----------|-------|----|
|  | NaCl   | 1    | 14       | 0,014 | 5  |
|  | MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O               | 0,6  | 42,2     | 0,025 | 6  |
|  | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>    | 0,6  | 30,7     | 0,018 | 7  |
|  | Tween 80   | 4    | 162      | 0,648 | 8  |
|  | <b>Вартість 1 л середовища – 70,20</b>             |      |          |       |    |
| <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> XG5 | Глюкоза  | 5,5  | 52       | 0,286 | 1  |
|  | Сахароза   | 100  | 33       | 3,3   | 9  |
|  | Триптон  | 10   | 17324,16 | 173,2 | 10 |
|  | Яловичий екстракт                                  | 10   | -        | -     | -  |
|  | Дріжджовий екстракт                                | 5    | 1100     | 5,5   | 2  |
|  | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O | 2,62 | 60       | 0,15  | 4  |
|  | натрію ацетату безводного                          | 5    | 60       | 0,3   | 11 |
|  | Триосновий цитрату амонію                          | 2    | 300      | 0,6   | 14 |
|  | MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O               | 0,58 | 42,2     | 0,025 | 6  |

|   |  |       |         |       |    |
|---|--|-------|---------|-------|----|
|   | MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O       | 0,25  | 36      | 0,009 | 12 |
|   | Tween 80                                   | 1 мл  | 162     | 0,162 | 8  |
| <b>Вартість 1 л середовища – 183,50 грн</b>               |  |       |         |       |    |
| X.<br><i>campestris</i> C<br>GMCC15155                    | Сахароза                                   | 52,3  | 33      | 1,73  | 9  |
|   | Соєвий пептон                              | 4     | 4 915,8 | 19,66 | 15 |
|   | Карбонат кальцію                           | 4     | 31      | 0,124 | 13 |
|   | <b>Вартість 1 л середовища – 21,5грн</b>   |       |         |       |    |
| <i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i> ATCC 39920 | Меляса                                     | 85,35 | 18      | 1,54  |    |
|   | Дріжджовий екстракт                        | 50    | 1100    | 55    | 2  |
|   | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>            | 2,5   | 60      | 0,15  | 4  |
|   | NaCl                                       | 2,0   | 14      | 0,028 | 5  |
|   | MgSO <sub>4</sub>                          | 1,5   | 42,2    | 0,063 | 6  |
|   | <b>Вартість 1 л середовища – 56,80 грн</b> |       |         |       |    |

\*1 - <https://prom.ua/ua/p818429907-dekstroza-glyukoza.html> ; 2 - <https://kreon-d.com.ua/ua/p1086437845-ekstrakt-drozhzhej.html> ; 3 - <https://shop.hlr.ua/pepton-fermentativnyy-pan-gis-12817.html>; 4 - <https://ua.bizorg.su/fosfaty-r/p3885928-kaliy-fosfornokislyy-2zameshtennyy-3vodnyy-fosfat-kaliya-min-fasovka-10g-gost-249375-k2hpo4-3h2o> ; 5 - [https://soltis.ua/ua/p1617279474-sol-pischevaya-kamennaya.html?source=merchant\\_center&gclid=Cj0KCQiA2-2eBhCIARIsAGLQ2RkiYNhaKviCU\\_70AeTWPHAD0ZN2pRuQerBq0QO9CFOnlYWxgqKIIrcaAlzaEALw\\_wcB](https://soltis.ua/ua/p1617279474-sol-pischevaya-kamennaya.html?source=merchant_center&gclid=Cj0KCQiA2-2eBhCIARIsAGLQ2RkiYNhaKviCU_70AeTWPHAD0ZN2pRuQerBq0QO9CFOnlYWxgqKIIrcaAlzaEALw_wcB); 6 - <https://agriks.com.ua/mineralnoe-udobrenie-sulfat-magniya-mgso47h2o-25-kg-yara.html> ; 7 - <https://prom.ua/ua/p1728950993-sulfat-amoniyu-amonij.html>; 8- [https://snabhim.com.ua/uk-ua/polisorbat?gclid=Cj0KCQiA22eBhCIARIsAGLQ2RkMvHfkQzyMyceXUQFX7T4luKmhGFayNWUOLUByoYrKUy0Cz4eb3aUaApFNEALw\\_wcB](https://snabhim.com.ua/uk-ua/polisorbat?gclid=Cj0KCQiA22eBhCIARIsAGLQ2RkMvHfkQzyMyceXUQFX7T4luKmhGFayNWUOLUByoYrKUy0Cz4eb3aUaApFNEALw_wcB) ; 9 - [https://agromarket.net.ua/catalog/item/sakhar\\_10kg\\_meshok\\_s\\_ruchkoy/](https://agromarket.net.ua/catalog/item/sakhar_10kg_meshok_s_ruchkoy/) ; 10 - <https://shop.hlr.ua/pepton-kazeinovy-tripton-dbiotehnologii-fermtech-1-kg-234209.html> ; 11 - <https://ua.all.biz/uk/acetat-natriyu->

[g15932145](https://all-him.com.ua/uk/p/713348676-sulfat-marganca-marganec-sernokislyy/) ; 12 - <https://all-him.com.ua/uk/p/713348676-sulfat-marganca-marganec-sernokislyy/> ; 13 - [https://prom.ua/ua/p1586525861-karbonat-kaltsiyaugleki.html?utm\\_source=google\\_pmax&utm\\_medium=cpc&utm\\_content=pmax&utm\\_campaign=Pmax\\_cpa\\_war\\_produkty\\_pitaniya&gclid=Cj0KCQiA2-2eBhCIARIsAGLQ2Rkv5473NJBbBTd3ajnjul77iT0GdOpsjTyXtxq7yk1FRDUwUXmrBwaAr0dEALw\\_wcB](https://prom.ua/ua/p1586525861-karbonat-kaltsiyaugleki.html?utm_source=google_pmax&utm_medium=cpc&utm_content=pmax&utm_campaign=Pmax_cpa_war_produkty_pitaniya&gclid=Cj0KCQiA2-2eBhCIARIsAGLQ2Rkv5473NJBbBTd3ajnjul77iT0GdOpsjTyXtxq7yk1FRDUwUXmrBwaAr0dEALw_wcB) ; 14 - [https://www.covalent.com.ua/shop/ammonium\\_citrate/](https://www.covalent.com.ua/shop/ammonium_citrate/); 15 - <https://www.carlroth.com/en/en/peptones/peptone-ex-soya/p/2365.4>

Таблиця 2.3.3

Умовна вартість біомаси, синтезованої на суміші ростових субстратів

| Біологічний агент                          | Концентрація полісахариду г/л | Тривалість культивування, год | Кількість біомаси, утвореної за годину, г/л | Вартість 1 л середовища, грн/л | Умовна вартість цільового продукту, грн/г |
|--|-------------------------------|-------------------------------|---|--------------------------------|---|
| 1  | 2                             | 3                             | 4   | 5                              | 6   |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> UVMU6-1     | <b>109</b>                    | 114                           | 1,1   | 70,20                          | 0,64                                      |
| <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> XG5 | <b>40,07</b>                  | 42                            | 0,95  | 183,50                         | 4,58                                      |
| <i>X. campestris</i> C GMCC15155           | <b>29,1</b>                   | 66                            | 0,4   | 20,5                           | 0,7                                       |

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

### 2.4.1. Розрахунок потужності виробництва

Трансдермальний пластир на основі мікроголок завантажених інсуліном є новим девайсом і не випускався ще в Україні та закордоном. Тому розглянемо статистику кількості виробництва звичайного інсуліну в нашій країні та імпортованого. Станом на 2021 рік вітчизняні виробники можуть запропонувати 29,6% обсягу асортименту інсулінів в Україні. З них фармацевтичні компанії «Індар», яка випускає 12 препаратів інсуліну та «Фармак» - 9. Кількість імпорту препаратів інсуліну закордонних виробників (Нордіск (Данія), Санофі-Авентіс Дойчланд ГмбХ (Німеччина), Ліллі Франс (Франція), БІОТОН С.А. (Польща)) складає 43 найменування або 60,6%. Також існує практика спільного виробництва інсуліну закордонними та українськими компаніями, що складає 9,8 % асортименту. Наприклад, Санофі-Авентіс Дойчланд ГмбХ разом із ТОВ Фарма Лайф випускають 6 препаратів інсуліну, а Біокон Лімітед (Індія) разом з ПАТ Фармак (Україна) виготовляють лише 1 препарат (Vlasenko & Davtian, 2021).

Ін'єкції інсуліном за допомогою шприца, шприц-ручки, інсулінової помпи є традиційними методами лікування цукрового діабету. До них звикли і користуються мільйони людей, ми ж пропонуємо альтернативу – новий неінвазивний спосіб доставки за допомогою трансдермального пластиру на основі мікроголок завантажених інсуліном. Так, як це буде не єдиний лікарський препарат для лікування, а також абсолютно інноваційний, який попередньо не ще не випускався, ми рахуємо, що потреба в ньому, а зокрема у полісахариді складає не більше 20 % на даний момент, з розрахунку на використання його як в Україні так і експорту закордон.

Тоді потужність нашого виробництва складе :

$$G_{гп} = 7046 \text{ кг пулулану} \times 0,2 = 1409,2 \text{ кг/рік.}$$

Врахуємо 20% витрат на виділення та очищення цільового продукту:

$$G_{гп} = (1409,2 \times 0,2) + 1409,2 = 1691,04 = 1691 \text{ кг пулулану на рік.}$$

Приймаємо як 1691 кг/рік пулулану.

Оскільки, введення абсолютно нового препарату є завжди ризикованим і непередбачуваним в далекоглядній перспективі та потребує багато подальших статистичних досліджень, відсоток є не великим.

#### 2.4.2. Розрахунок кількості виробничих циклів та геометричного об'єму ферментера

Для забезпечення хворих трансдермальними пластирками на основі мікроглобок, навантажених інсуліном, на рік, потрібно одержати 1691 кг пулулану. Даний полісахарид синтезується мутантним штамом *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 протягом 114 годин в кількості (Хкр) 109 г/л (Chen, Wang, & Xian, 2017) . До цього часу варто додати процеси підготовки ферментера: 1,5 год на миття та огляд, 0,5 год – перевірка на герметичність, 0,5 год – підігрів апарату, 1 год – стерилізація апарату, 0,5 год – охолодження, 1,5 год – завантаження середовища, 0,5 год – засів та 1 год – вивантаження культуральної рідини. Загальна кількість часу на підготовку ферментера становить 7 годин, додамо їх до 114 год та отримаємо 121 год циклу роботи ферментера (Тцф).

Загалом, кількість робочих трудоднів буде становити  $T_{рд} = 100$  днів.

Розрахуємо кількість ферментаційних циклів на рік :

$$N_{цк} = \frac{24 * T_{рд}}{T_{цф}} = \frac{24 \cdot 100}{121} = 19,8 \approx 20$$

Кількість продукту за цикл, кг /цикл

$$G_{цк} = \frac{V_{нт}}{N_{цк}} = \frac{1691}{20} = 84,55 \approx 85$$

Об'єм КР, що зливається за одну ферментацію (цикл) з урахуванням частки втрат на нестерильні ферментації  $E_{св}$ , м<sup>3</sup>.

$$V_{кр} = K1 \cdot G_{цк} * C_{Ргп} / X_{кр} \cdot (1 - E_{св}) = (1,1 \times 85 \times 0,9) / (109 \times (1 - 0,20)) = 0,97$$

## РОЗДІЛ 3

### ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ТА ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЇ

#### 3.1. Обґрунтування стадій виділення і очищення пулулану

Завдяки своїм характеристикам пулулан використовується у харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості. У даній курсовій роботі пропонується використання пулулану, синтезованого модифікованим штамом *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 для виготовлення трансдермального пластиря на основі розчинних мікроглобок для підшкірного введення інсуліну (Fonseca, Costa, & Freire, 2020).

##### 3.1.1. Етапи виділення та очищення екзополісахариду

На схемі (рис. 3.1.1.) наведено стадії виділення та очищення пулулану фармацевтичного призначення (Tanwar, 2020).

| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата | ЛУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ  |             |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|---|-------------|-------|---------|
| Розробник | Степенко А.В.  |   |        |      | РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-<br>ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ<br>ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ<br>ТА ОЧИСТКИ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ<br>ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ТА<br>ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ<br>З ВРАХУВАННЯМ | Літера      | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |   |             | 57    | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      |   | Кафедра БТМ |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |   |             |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |   |             |       |         |

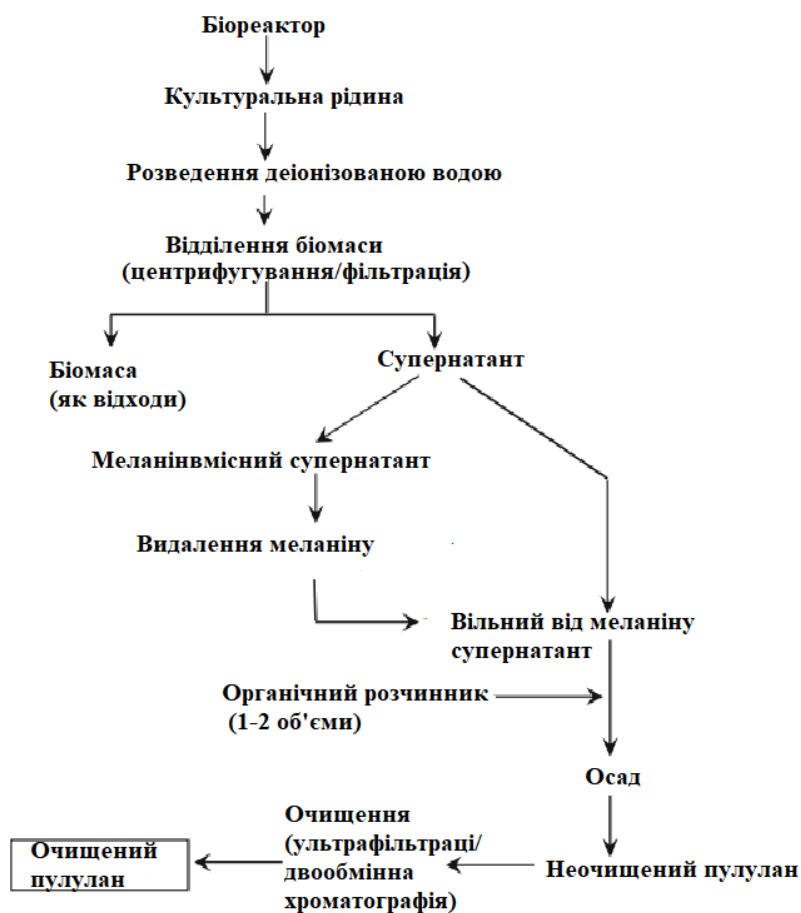


Рис. 3.1.1. Етапи виділення та очищення пулулану (Tanwar, 2020)

### 3.1.2. Обґрунтування попередньої обробки культуральної рідини перед відділенням біомаси

Особливістю під час виробництва пулулану, як і інших полісахаридів, є висока в'язкість культуральної рідини. Тому перед відділенням біомаси, для зниження в'язкості, необхідно розбавити культуральну рідину, зазвичай у деіонізовану або дистильовану водою у співвідношенні 1:2 (Torres, 2015; Wu, 2016), що збільшує витрати на етапах виділення. Оскільки пулулан у трансдермальній системі не є активним фармацевтичним інгредієнтом, використання звичайної питної води, не буде негативно впливати на подальші властивості системи. Тому, для зменшення економічних витрат на виробництво майбутнього цільового продукту, для попереднього розведення буде використовуватись вода питна.

### 3.1.3. Обґрунтування способу відділення біомаси

Відділити біомасу можна наступними способами (Пенчук, 2019; Карлаш, 2013):

1. *Седиментація* – осідання завислих у рідині твердих частинок. Та подальше їх відстоювання. Такий спосіб використовують у процесах бродіння та переробки відходів. Недоліком є довгий період часу, який необхідно витратити для відділення біомаси нашого продуцента. В порівнянні з наступними методами, використання цього не є ефективним.

2. *Фільтрація* – розділення твердої та рідкої фаз під час перепускання суспензії крізь пористу перегородку. Істотним недоліком є зниження швидкості фільтрації через накопичення біомаси на фільтрі. Тому для інтенсифікації процесу попередньо проводять кислотну або теплову коагуляцію культуральної рідини шляхом обробки електролітами або використовують барабанні вакуум-фільтри з шаром перліту або діатоміту на фільтрувальній тканині. Даний спосіб є менш енергоємним, але і менш ефективним в порівнянні з центрифугуванням.

3. *Центрифугування* - процес розділення рідких неоднорідних систем у полі дії відцентрових сил. Швидкість розділення сумішей в центрифугах значно вища, ніж у фільтрах і відстійниках, завдяки більшій рушійній силі, що виникає при обертанні ротора центрифуги разом з суспензією, що знаходиться в ньому.

Зазвичай у промисловому біотехнологічному виробництві для розділення, концентрування та очищення використовують сепаратори через їхні переваги:

- висока швидкість,
- можливість обробити більші об'єми суспензій, що важко фільтруються,
- найменші втрати та зміни пулулану,
- проста автоматизація, компактність та легка мийка апаратури,
- немає потреби у фільтрувальних добавках.

Звертаючи увагу, що в статтях про оптимізаційні процеси біосинтезу та виділення пулулану часто вказується центрифугування (сепарація) як метод виділення полісахариду з використанням великих потужностей та швидкостей : 10 000 об/хв (Sugumaran, Jothi, & Ponnusami, 2014), 5 000 об/хв (Terán Hílares, Resende, & Santos, 2019); 3500 об/хв (Xu, Yue, & Han, 2014) та на вище перераховані переваги методу, було вирішено використовувати його як спосіб відділення

біомаси.

### 3.1.4. Обґрунтування способу очищення супернатанту від меланіну

Особливістю *Aureobasidium pullulans* є паралельний синтез меланіну під час утворення пулулану, що служить захистом гриба від несприятливих факторів зовнішнього середовища. Але для виробництва пулулану, що застосовується в медичних цілях, це є недоліком, оскільки потребує додаткових маніпуляцій для під час очищення продукту. Як вирішення проблеми застосовують генну інженерію, що дозволяє створювати штами, які не синтезують меланін, або синтезують у менших кількостях, але це не є панацеєю, оскільки такі продуценти утворюють значно меншу кількість пулулану (Liu, Zhang, Wang, 2021.). Оскільки, у статті, в якій повідомляється про отримання пулулану в кількості 109 г/л (Chen, Wang, & Xian, 2017), не вказано, що даний генетично модифікований штам позбавлений здатності до синтезу меланіну, необхідно передбачити очищення супернатанту від пігмента.

Таке очищення може бути здійснене наступними способами (Ponnusami, 2015; Wu, 2009):

- адсорбцією на активованому вугіллі;
- обробкою сумішшю розчинників (етанол/етилметилкетон 60:40)
- комбінованою обробкою розчинник/сіль
- обробкою 4%-ним перекисом водню (масова частка)

Останній метод ефективно видаляє пігменти меланіну, а також потребує порівняно найменше затрат та маніпуляцій. Залишки перекису водню будуть видалені після осадження полісахариду разом з водно-спиртовою сумішшю (Tanwar, 2020).

### 3.1.5. Обґрунтування способу концентрування супернатанту

Для ефективного виділення пулулану, а також для зниження витрат органічного розчинника на осадження полісахариду вільний від меланіну супернатант необхідно сконцентрувати. Це можна зробити наступними способами (Карлаш, 2013;):

1. Мембранні методи :

- **мікрофільтрація** – пропускання супернатанту через мембрани діаметр пор в

яких 0,1 - 10 мкм

- **ультрафільтрація** - пропускання розчину через мембрану з порами розміром від 0,01 до 0,1 мкм, що дозволяє сконцентрувати високомолекулярні речовини з очищенням маси від низькомолекулярних домішок

Такий спосіб дозволяє сконцентрувати термолабільні компоненти, хоч і за довший період часу, а оскільки пулулан таким не є, то можна використати швидший та дешевший процес – випарювання.

2. Випарювання - процес утворення парової фази, який відбувається в усій масі рідини. А процес пароутворення, що настає до моменту кипіння називається випаровуванням і використовується для зневоднення суспензій з метою концентрації.

Оскільки пулулан є термостійким, його концентрування можна здійснювати при 80-100 °C (Sheng, 2016; Sugumaran, 2014).

### **3.1.6. Обґрунтування способу виділення пулулану із супернатанту**

Нерозчинність пулулану в органічному розчиннику, внаслідок чого ЕПС випадає в осад, який можна вже очищувати та сушити, і є ключовою властивістю, що лежить в основі його виділення концентрованого супернатанту.

Існує багато органічних розчинників, придатних для осадження пулулану, зазвичай використовуються групи спиртів, складних і простих ефірів з трьома або більше атомами вуглецю (табл.3.1.6). Багаточисельні дослідження показали, що розчинники з відносно вищою молекулярною масою та трохи нижчою гідрофільністю є більш придатними для таких процесів порівняно з розчинниками з меншою молекулярною масою та вищою гідрофільністю (метанол, етанол). Розчинники з відносно низькою гідрофільністю (пропіловий, ізопропіловий спирт, тетрагідрофуран, діоксан) не тільки здатні здійснювати повне осадження пулулану з додаванням меншого об'єму розчинника, а також виявляють достатню ефективність видалення домішок. Також, застосовують комбінації прописаних вище розчинників (Singh, & Saini, 2012):

Таблиця 3.1.6.

| Розчинник                  | Ціна, грн/л | Необхідний об'єм | Токсичність                          | Можливість регенерації  | Література  |
|----------------------------|-------------|------------------|--------------------------------------|---|---|
| <b>Етанол (абсолютний)</b> | 85          | подвійний        | -                                    | можлива його регенерація і повернення у виробничий цикл шляхом ректифікації   | <a href="http://prom.ua">prom.ua</a> ;<br>Terán Hilares, Resende, & Santos, 2019;<br>Бухкало, Ольховська, & Сирку, 2019 |
| <b>Метанол</b>             | 56          | десятикратний    | дуже токсичний                       | можлива   | <a href="http://ekohimstandart.com.ua">ekohimstandart.com.ua</a> ;<br>Бухкало, 2019;<br>Danjo, 2017                     |
| <b>Ізопропанол</b>         | 98          | подвійний        | менш токсичний порівняно з метанолом | регенерація ізопропілового спирту з його водних розчинів є економічно вигідною, оскільки він має значно нижчу теплоту пароутворення порівняно з водою або іншими нижчими спиртами | <a href="http://him-component.com.ua">him-component.com.ua</a> ;<br>Перекупко, 2014;<br>Mishra, 2014                    |
| <b>Ацетон</b>              | 89          | Подвійний        | мінімальна                           | регенерація шляхом перегонки характеризуєть   | <a href="http://him-lab.pp.ua">him-lab.pp.ua</a><br>Badhwar, Kumar, & Dubey, K. 2019;<br>Nikolenko, Vashkevich,         |

|  |  |  |  |                                       |                 |
|--|--|--|--|---------------------------------------|-----------------|
|  |  |  |  | ся найменшими енергетичними затратами | & Solovov, 2016 |
|--|--|--|--|---------------------------------------|-----------------|

Порівнявши розчинники, можна зробити висновок, що етанол є найкращим економічно вигідним варіантом для нашого виробництва, враховуючи його ціну, нетоксичність та можливість регенерації.

### 3.1.7. Обґрунтування способу відділення осаду пулулану

Відділити осад пулулану можна фільтрацією або центрифугуванням. Враховуючи ряд переваг сепарування перед фільтруванням, описаних вище, а особливо, високу швидкість процесу, такий спосіб необхідно застосувати і на даному етапі .

### 3.1.8. Обґрунтування способу очищення пулулану

Оскільки, полісахарид застосовується в медицині і потребує високого ступеня очищення, то його необхідно піддати додатковим методам очистки (Barcelos, 2020; Agrawal, 2022) :

- повторне осадження органічними розчинниками.
- депротейнізація фізичними або хімічними методами. Наприклад, часто застосовувана, депротейнізації за допомогою реагента Севіджа в об'ємі 1:4 (хлороформ: н-бутанол = 5:1) (Osińska-Jaroszuk, 2015; Wang, 2018; Wang, 2022).

- комбіновані мембранні процеси:

- **діаліз** – застосування напівпроникних мембран для відділення низькомолекулярних речовин від високомолекулярних. Цей метод є суто лабораторним, оскільки є повільним та застосовується для менших об'ємів. Для пришвидшення такого процесу пропускають постійний електричний струм через розчин, що піддається діалізу (електродіаліз) та використовують селективні мембрани. Електродіаліз доступний для промислових виробництв (Карлаш, 2013; Osińska-Jaroszuk, 2015; Wang, 2018; Wang, 2022)

•**ультрафільтрація.** Проблема полягає у забиванні мікропор через концентраційну поляризацію, але виходом є застосування хімічних інгібіторів або підвищення швидкості та турбуляризація потоку для промислових установок. Такий метод часто використовують при виробництві пулулану та інших ЕПС (Карлаш, 2013; Чадченко, 2022; Singh, 2012 .).

•**зворотній осмос** – процес рушійною силою якого є градієнт концентрації. Процес схожий на ультрафільтрацію, тільки використовуються мембрани з порами меншого розміру і вищий тиск. Використовуються для концентрування низькомолекулярних речовин, тому такий метод нам не підходить (Карлаш Ю.В., 2013).

Отже, найкращим способом, для промислового виробництва, що забезпечить і максимальне очищення, і концентрування пулулану без додаткових комбінацій методів, є ультрафільтрація попередньо розчиненого у питній воді очищеного осаду пулулану. Але варто зазначити, що перед ультрафільтрацією необхідно застосувати промивання осаду чистим розчинником для кращого розчинення пулулану при майбутньому практичному використанні, а також при ультрафільтрації.

### 3.1.9. Обґрунтування способу сушіння пулулану

Сушіння – кінцева стадія виробництва під час якої відбувається видалення вологи з матеріалів за допомогою теплової енергії. Пулулан є термостабільним, і для його сушіння, зазвичай, використовується температура 80-90 °С до постійної сухої маси (Terán Hílares, 2019; Sugumaran, 2014).

Доступно багато варіантів сушіння концентрованого вологого продукту (Бичков, 2014; Карлаш, 2013; Cherepanskyi, 2019):

•**Контактна сушка** – найпростіший спосіб, під час якого матеріал нагрівається в результаті безпосереднього контакту з гарячими поверхнями. Але водночас вона є малопродуктивною, шкідливою для термолабільних компонентів та має періодичну дію.

•**Конвективна сушка** – процес, під час якого теплота підводиться до висушеного матеріалу за допомогою газоподібного сушильного агента-

теплоносія, який служить випаровування вологи (розпилюючі, пневматичні, сушарки, сушарки з киплячим шаром).

•**Радіаційна сушка** – використання інфрачервоного випромінювання в якості теплоносія. Недоліком є енергозатратність та непридатність для сушіння великих об'ємів.

•**Сублімаційна сушка** забезпечує високоякісне очищення шляхом випаровування твердого тіла без його розплавлення. За рахунок зневоднення забезпечує довше зберігання продукту, а також зберігається структура матеріалу продукту і висушений матеріал характеризується доброю дисперсністю і пористістю. З недоліків – енергозатратна складна установка.

### **Сушарки конвективного типу:**

- **Пневматична сушарка** працює шляхом підігрівання повітря в калорифері та подачу його у сушильну трубу через живильник. Сухі частки препарату відділяються від повітря в циклоні, а відпрацьоване повітря поступає на додаткове очищення у фільтрі. Тут є можливість застосовувати високі температури сушіння та короткий проміжок часу. Є сильно енергозатратною та складнорегульованою.

- **Сушарка з киплячим шаром** є більш ефективнішою при сушінні термолабільних компонентів з використанням високих температур за рахунок короткочасного контакту продукту із агентом-теплоносієм та забезпечує безперервність і автоматизацію процесу.

- **Сушарка розпилювального типу** забезпечує швидке висушування завдяки великій поверхні контакту суспензії продукту з теплоносієм. Є ефективною, але доволі енергозатратною.

В нашому випадку, найбільш рентабельним та ефективним буде використання сушарки розпилювального типу, що забезпечить необхідну нам потужність та отримання вже готового пулулану, який не потрібно буде додатково подрібнювати, що є економічно доцільним.

### **3.2. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків**

Розподіл втрат по стадіях та підбір необхідного обладнання наведено у таблиці 3.2.

Вихідні дані:

1. Об'єм культуральної рідини з однієї ферментації ( $V_{кр}$ ) = 0,97 м<sup>3</sup> ;
2. Концентрація пулулану у культуральній рідині ( $C_{пул}$ ) = 109 г/л;
3. Концентрація біомаси *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 в культуральній рідині ( $C_{біом}$ ) = 125 г/л;
4. Втрати на стадіях виділення і очищення пулулану С ( $W_{втрат}$ ) = 20%;

На початку кількість сухого пулулану в культуральній рідині сягає  $0,97 \times 109 = 105,7 \approx 106$  кг. Необхідно врахувати 20 % втрат, тоді кінцевий вихід пулулану складе  $84,8 \approx 85$  кг (таб.1)

Таблиця 3.2

**Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям**

| п/п  | Назва стадії (операції)  | Матеріальні потоки на стадії | Кількість по стадіям                  |                    |                                       | Необхідне обладнання  |
|--|--|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|---------------------------------------|---|
|  |  |                              | Надійшло                              | Втрати (разом 20%) | Вийшло                                |   |
|  | 2  | 3                            | 4                                     | 5                  | 6                                     | 7   |
| <b>ТП 2 Зберігання культуральної рідини</b>                                  |  |                              |                                       |                    |                                       |   |
|  | ТП 2 Зберігання культуральної рідини                             | Культуральна рідина          | 0,97 м <sup>3</sup> (106 кг пулулану) | -                  | 0,97 м <sup>3</sup> (106 кг пулулану) | Реактор-змішувач культуральної рідини об'ємом 1 м <sup>3</sup>          |
| <b>ТП 3 Попередня обробка культуральної рідини перед відділенням біомаси</b> |  |                              |                                       |                    |                                       |   |
|  | ТП 3.1 Розведення культуральної рідини перед відділенням біомаси | Культуральна рідина          | 0,97 м <sup>3</sup>                   | -                  | 0,97 м <sup>3</sup>                   | Відцентровим насосом перекачуємо до реактора змішувача 3 м <sup>3</sup> |

|  |  |                                     |  |    |  |  |
|--|--|-------------------------------------|--|----|--|--|
|  |  | Питна вода                          | 1,9 м <sup>3</sup>   | -  | -  | Через лічильник подається у реактор-змішувач 3 м <sup>3</sup>                            |
|  |  | Розведена культуральна рідина       | -  | -  | 2,9 м <sup>3</sup>   | Відцентровим насосом подається у сепаратор   |
| <b>ТП 4 Відділення біомаси</b>                 |  |                                     |  |    |  |  |
|  | ТП 4.1.<br>Сепарування культуральної рідини        | Біомаса (вологість 90%)             | -  | -  | 125*0,97 = 121,3<br>≈ 121 г сухої біомаси<br>(100·121)/10 =<br>1210 кг вологої | Сепаратор<br>Швидкість обертання – 7302 об/хв.;<br>Пропускна здатність – 300 – 500 л/год |
|  |  | Супернатант                         | 2,9 м <sup>3</sup> -1,2 м <sup>3</sup><br>=1,7 м <sup>3</sup><br>(106 кг пулулану) | 2% | 1,6 м <sup>3</sup><br>(104 кг пулулану)  | Відцентровим насосом перекачуємо до збірника 2 м <sup>3</sup>                            |
| <b>ТП 5 Очищення супернатанту від меланіну</b> |  |                                     |  |    |  |  |
|  | ТП 5.1 Обробка супернатанту 4%-ним перекисом водню | Супернатант                         | 1,6 м <sup>3</sup>   | -  | -  | Збірник 2 м <sup>3</sup>   |
|  |  | Перекис водню 4 %                   | 1,6·0,04 = 0,064 м <sup>3</sup>  | -  | -  | Збірник 100 л  |
|  |  | Звільнений від меланіну супернатант | 1,6+0,064 = 1,66 м <sup>3</sup>  | 1% | 1,62 м <sup>3</sup><br>(103 кг пулулану)                                       | Перекачуємо відцентровим насосом до випраного апарату 2 м <sup>3</sup>                   |
| <b>ТП 6 Концентрування супернатанту</b>        |  |                                     |  |    |  |  |

|                                |  |  |  |     |   |  |
|--------------------------------|--|--|--|-----|---|--|
|                                | ТП 6.1 .<br>Випарювання<br>супернатанту              | Звільнений<br>від меланіну<br>супернатант      | 1,62 м <sup>3</sup>                    | -   | -   | Випарний<br>апарат 2 м <sup>3</sup> з<br>продуктивністю 30<br>кг/год                                 |
|                                |  | Концентрат<br>пулулану (50%<br>вологи )        | 0,81 м <sup>3</sup>                    | 2 % | 0,79 м <sup>3</sup><br>(101 кг<br>пулулану)   | Відцентровим<br>насосом перекачуємо<br>до реактора<br>змішувача 3 м <sup>3</sup>                     |
| <b>ТП 7 Виділення пулулану</b> |  |  |  |     |   |  |
|                                | ТП 7.1. Осадження<br>пулулану етанолом               | Концентрат<br>пулулану                         | 0,79 м <sup>3</sup>                    | -   | -   | Реактор-<br>змішувач 3 м <sup>3</sup>  |
|                                |  | 99,9% - ий<br>етиловий спирт                   | $0,79 \cdot 2 = 1,58$ м <sup>3</sup>   | -   | -   | Збірник 3 м <sup>3</sup>   |
|                                |  | Водно-<br>спиртова суміш із<br>осадам пулулану | $1,58 + 0,79 = 2,37$<br>м <sup>3</sup> | 3%  | 2,29 м <sup>3</sup><br>(98 кг пулулану)   | Відцентровим<br>насосом перекачуємо<br>до сепаратора   |
|                                | ТП 7.2. Відділення<br>осаду пулулану<br>сепаруванням | Водно-<br>спиртова суміш із<br>осадам пулулану | 2,29 м <sup>3</sup>                    | -   | -   | Сепаратор<br>Швидкість<br>обертання – 7302<br>об/хв.;<br>Пропускна<br>здатність – 300 – 500<br>л/год |
|                                |  | Вологий осад<br>пулулану (вологість<br>90%)    | -                                      | 1%  | $0,79 - 0,079 = 0,71$<br>м <sup>3</sup><br>(10% вологи з<br>концентрату<br>перейшло у водно-<br>спиртову суміш), з<br>урахуванням втрат | Конвеєром<br>подаємо осад до<br>реактора змішувача 2<br>м <sup>3</sup>                               |

## Продовження таблиці 3.2

|   |  |  |                                |    |  |  |
|---|--|--|--------------------------------|----|--|--|
|   |  |  |                                |    | 0,71-<br>(0,71×0,01)=0,70 м <sup>3</sup><br>(97 кг пулулану) |  |
|   |  | Водно-спиртова суміш (супернатант)         | -                              | -  | 2,29-0,7=1,59 м <sup>3</sup>                                 | На регенерацію спирту  |
| ТП 7.3.<br>Зневоднення осаду пулулану промиванням чистим етанолом |  | Вологий осад пулулану (вологість 90 %)     | 0,70 м <sup>3</sup>            | -  | -  | Реактор-змішувач 2 м <sup>3</sup>  |
|   |  | 99,9%-ий етиловий спирт                    | 0,70·0,5 = 0,35 м <sup>3</sup> | -  | -  | Збірник 1 м <sup>3</sup><br>Подаємо до реактора – змішувача 2 м <sup>3</sup>             |
|   |  | Водно-спиртова суміш з осадом пулулану     | -                              | -  | 0,70+0,35=1,05 м <sup>3</sup>                                | Відцентровим насосом перекачуємо до сепаратора   |
| ТП 7.4. Відділення осаду пулулану центрифугуванням                |  | Водно-спиртова суміш з осадом пулулану     | 1,05 м <sup>3</sup>            | -  | -  | Сепаратор<br>Швидкість обертання – 7302 об/хв.;<br>Пропускна здатність – 300 – 500 л/год |
|   |  | Зневоднений осад пулулану (вологість 45 %) | -                              | 3% | 0,70-<br>(0,70×0,45)= =0,38 м <sup>3</sup>                   | Конвеєром подаємо осад до реактора змішувача 3   |

|   |   |                                    |   |   |  |  |
|---|---|------------------------------------|---|---|--|--|
|   |   |                                    |   |   | (45% вологи з концентрату перейшло у водно-спиртову суміш), з врахуванням втрат $0,38 - (0,38 \times 0,03) = 0,37 \text{ м}^3$<br><br>(96 кг пулулану) | $\text{м}^3$   |
|   |   | Водно-спиртова суміш (супернатант) | - | - | $1,05 - 0,37 = 0,68 \text{ м}^3$   | На регенерацію спирту  |
| <b>ТП 8 Очищення пулулану</b>             |   |                                    |   |   |  |  |
| ТП 8.1. Розчинення осаду пулулану         | Зневоднений осад пулулану (вологість 45%) | $0,37 \text{ м}^3$                 | - | - |  | Реактор-змішувач $3 \text{ м}^3$   |
|   | Деіонізована вода                         | $0,37 \times 5 = 1,85 \text{ м}^3$ | - | - |  | Збірник $2 \text{ м}^3$  |
|   | Розчин пулулану                           | -                                  | - |   | $0,37 + 1,85 = 2,22 \text{ м}^3$   | Відцентровим насосом перекачуємо до ультрафільтраційної установки                |
| ТП 8.2. Ультрафільтрація розчину пулулану | Розчин пулулану                           | $2,22 \text{ м}^3$                 | - | - |  | Ультрафільтраційна установка потужністю з діаметром пор $0,01 - 0,1 \text{ мкм}$ |

Продовження таблиці 3.2

|  |  |                               |                                  |    |   |  |
|--|--|-------------------------------|----------------------------------|----|---|--|
|  |  | Супернатант                   | -                                | -  | $2,22 - (2,22/5) = 1,78 \text{ м}^3$  | На утилізацію  |
|  |  | Ультраконцентрат              | -                                | 3% | $2,22 - 1,78 = 0,44 \text{ м}^3$ , з урахуванням втрат $0,44 - (0,44 \times 0,03) = 0,43 \text{ м}^3$<br>(92 кг пулулану) | Відцентровим насосом перекачуємо до реактора-змішувача об'ємом $3 \text{ м}^3$ |
|  | ТП 8.3. Розведення ультра концентрату пулулану | Ультраконцентрат              | $0,43 \text{ м}^3$               | -  | -   | реактор-змішувач об'ємом $3 \text{ м}^3$                                       |
|  |  | Питна вода                    | $0,43 \cdot 5 = 2,2 \text{ м}^3$ | -  | -   | Через лічильник подаємо у реактор-змішувач об'ємом $3 \text{ м}^3$             |
|  |  | Розчин ультраконцентрату      | -                                | -  | $2,2 + 0,43 = 2,63 \text{ м}^3$<br>(92 кг пулулану)   | Відцентровим насосом перекачуємо до розпилювальної сушарки                     |
|  | ТП 8.4.Сушіння пулулану                        | Розчин ультраконцентрату      | $2,63 \text{ м}^3$               | -  | -   | Розпилювальна сушарка з потужністю 200 л/год                                   |
|  |  | Сухий пулулан (вологість 10%) | 92 кг                            | 4% | 88 кг   | Пересувна ємність об'ємом 100 л  |

| ПМВ 9 Пакування, маркування, відвантаження |  |                                |       |     |       |   |
|--|--|--------------------------------|-------|-----|-------|---|
|  | ПМВ 9.1.<br>Фасування, маркування і<br>відвантаження порошку<br>пулулану | Порошок<br>пулулану            | 88 кг | 1 % | -     | -   |
|  |  | Упакований в<br>пакети пулулан | -     | -   | 85 кг | Фасувальний<br>автомат, потужність<br>5-12 пак/хв |

### 3.2.1. Підбір обладнання для сепарування біомаси

Сепаратори поділяються :

●За призначенням:

- Роздільники – здійснюють розділення суміші взаємонерозчинних рідин;
- Прояснювачі - виділення твердих суспензій з рідини
- Згущувачі – концентрування суспензій
- Комбіновані – виконують одночасно дві або більше операцій переробки

суспензії

●Залежно від способу вивантаження осаду:

- машини безперервно-циклічної дії з ручним або механізованим вивантаженням осаду і

- безперервної дії.

●За типом барабана :

- Тарілчасті - розділення суспензій з невеликою різницею у відносній густині поділюваних фаз

- Багатокамерні - розділення суспензій зі значною різницею у відносній густині фаз. Мають більший обсяг шламового простору, ніж тарілчасті але і менший фактор розділення .

В нашому випадку доцільно буде застосувати дисковий вертикальний сепаратор безперервного типу моделі BPDC-300 торгової марки «Reyes» (рис. 1), який має наступні характеристики :

●Висока швидкість обертання – 7302 об/хв.;

●Пропускна здатність – 300 – 500 л/год. Це забезпечує тривалість процесу (на 2,9 м<sup>3</sup> ) культуральної рідини 6-10 годин, яка є оптимальною;

●Робоче навантаження – 4 кВт;

●Габарити : 950\*950\*1250;

●Робоча стабільність;

●Повністю герметична система впуску та випуску;

●Низький рівень шуму

●Професійно розроблена доцентрова насосна система має багато переваг: стабільний тиск на виході, велика сфера регулювання, легкість роботи;

•Має повну автоматичну коробку керування, яка використовується для захисту безпеки та оснащення, а також оснащений розширеним автоматичним тестером вібрації, який може переглядати значення вібрації в будь-який час.

•Можливість зробити розділення та розвантаження найкращим чином, регулюючи параметри розділення безпосередньо на екрані.

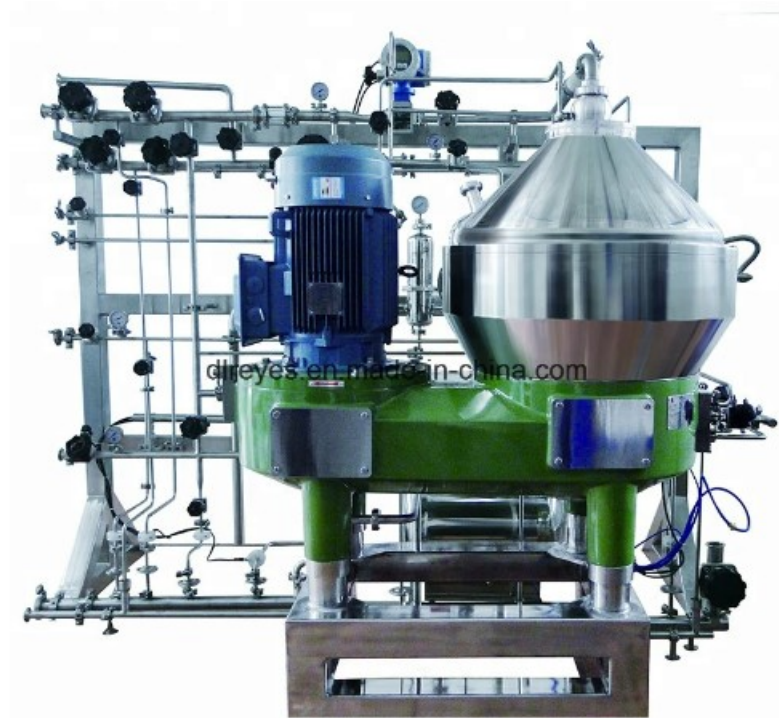


Рис.3.2.1. Вертикальний сепаратор BPDC-300 торгової марки Reyes

[\[dlreyes.en.made-in-china.com\]](http://dlreyes.en.made-in-china.com)

### 3.2.2. Підбір обладнання для концентрування супернатанту шляхом випарювання

Випарювання супернатанту можна здійснити за допомогою наступної апаратури:

1. **Плівкові випарні машини** (шляхом проходження нагрітого газу або повітря через плівкову поверхню). Здатні випарювати великі обсяги рідини за короткий час.
2. **Механічні випарні машини** (механічний нагрів).
3. **Роторні випарні машини**. дозволяють ефективно випарювання рідини за рахунок швидкого розсіяння та великої поверхні випарювання.

4. **Флеш-випарні машини** (за допомогою швидкого зниження тиску).

Випарювання відбувається при низькій температурі, що дозволяє використовувати їх для термолабільних розчинів.

5. **Вакуумні випарні машини** (за допомогою вакууму) Також є корисними при випарюванні чутливих до температури речовин.

Хоч і пулулан є термостабільним, для його концентрування буде використовуватись вакуумний кульовий випарник, оскільки, інші апарати випускаються у великих об'ємах та з дуже високою продуктивністю. У нашому випадку, виробництво не є на стільки габаритним, тому, щоб забезпечити економічно вигідне випарювання 1,62 м<sup>3</sup> очищеного супернатанту, буде достатньо вакуумного кульового випарника NZ-1000 від «JOSTON», який має наступні характеристики:

- Об'єм бака концентратора: 1000л;
- Випаровуваність: 160 кг/год;
- температура випаровування: менше 60 °С;
- Ступінь вакууму: 0,08-0,09 МПа



Рис.3.2.2 Вакуумний кульовий випарник NZ-100 від «JOSTON»

[[yinuomachine.en.made-in-china.com](http://yinuomachine.en.made-in-china.com)]

### 3.2.3. Підбір обладнання для очищення осаду пулулану ультрафільтруванням

Отже, враховуючу об'єм розчину пулулану  $2,22 \text{ м}^3$ , який необхідно очистити, та розміри клітин низькомолекулярного пулулану, що лежать в межах від 0,1 до 10 мкм, застосуємо ультрафільтраційну система Toray UFS 172T-S , Японія. Потужність якої 4 м3/год, Кількість і типорозмір мембран: 1 x HFU - 2020N; Площа фільтрації: 72 м2.



Рис.3.2.3. Ультрафільтраційна система Toray UFS 172T-S , Японія

[<https://prom.ua/ua/p1120568016-sistema-ultrafiltratsii-toray.html?&primelead=MS41>]

### 3.2.4. Підбір обладнання для сушіння пулулану

Апаратом вибору може бути відцентрова розпилювальна вакуумна сушарка CRT-SD10L здатна випаровувати від 10 до 200 л вологи за годину.



Рис.3.2.4. Відцентрова розпилювальна вакуумна сушарка CRT-SD10L  
[\[crtopmachine.com\]](http://crtopmachine.com)

Розчин ультра концентрату пулулану складає 3840 л. Щоб дізнатися чи підходить така продуктивність нашому виробництву, застосуємо наступну формулу: Час сушіння = Об'єм розчину / Швидкість випаровування. Якщо використати максимальну швидкість випаровування 200 л/год, то отримаємо  $3840/200 = 19,2 \approx 19$  годин, що забезпечує наші потреби. В табл.4.2. наведені основні параметри сушарки CRT-SD10L.

Таблиця 3.2.4.

**Технічні характеристики відцентрової розпилювальної вакуумної сушарки CRT-SD10L**

|  |                     |
|--|---------------------|
| Контроль температури повітря на вході              | $\leq 30-300$ °С.   |
| Контроль температури повітря на виході             | $< 30 \sim 150$ °С. |
| Максимальне випаровування води                     | 200-10 л/год.       |
| Форма передачі відцентрової розпилювальної головки | Електричний.        |

|  |                |
|--|----------------|
| швидкість                              | 40 000 об/хв   |
| Діаметр диска розпилювача              | 80 мм          |
| Джерело тепла                          | Електрика      |
| Електрообігрів максимальної потужності | 18 кВт         |
| Загальна потужність                    | 22 кВт         |
| Розміри Д*Ш*В (мм)                     | 2500*1600*2800 |
| Відновлення сухого порошку             | ≥98%           |

### 3.2.5. Підбір обладнання для пакування пулулану

Для подальшого зручного транспортування пулулану в кількості 85 кг є необхідність у пакуванні його в поліетиленові пакети по 5 кг. Це можна забезпечити за допомогою пакувальної машини торгової марки LTPM CHINA моделі LTWGF-W75S, що забезпечить фасування по 5 кг пулулану зі швидкістю 5 – 12 пакетів/хв.. Тобто, за найменшої швидкості, така машина впорається менше ніж за 20 хв.

LTWGF-W75S має наступні характеристики та особливості :

- Вага упаковки – 10г-10 кг
- Швидкість упаковки 5-12 шт/хв.
- Загальні розміри - 1205×1010×2174 мм
- Об'єм бункера - 75 л
- Конструкція з нержавіючої сталі;
- Бункер, який швидко від'єднується або розділяється, можна легко помити без інструментів.
- Гвинт приводу серводвигуна.
- Пневматичний затискач мішка та платформа оснащені тензодатчиком для обробки двох швидкостей наповнення відповідно до заданої ваги.
- Оснащений високошвидкісною та точною системою зважування.
- Plc Control, сенсорний дисплей, простий в експлуатації.
- Два режими наповнення можуть бути взаємозамінними, заповнення за об'ємом або за вагою. Заповнення за об'ємом з високою швидкістю, але

низькою точністю. Заповнення за вагою з високою точністю, але низькою швидкістю.

- Можливість зберегти параметр різної ваги наповнення для різних матеріалів, щоб заощадити максимум 10 наборів.

- Заміна частин шнека підходить для матеріалів від надтонкого порошку до гранул.



Рис.3.2.5. пакувальна машина торгової марки LTPM CHINA моделі LTWGF-W75S [[pharma-machinery.en.made-in-china.com](http://pharma-machinery.en.made-in-china.com)]

## РОЗДІЛ 4

### СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Таблиця 4

**Специфікація обладнання ділянки виділення та сушіння пулулану.**

| Позиція | Найменування                                       | Кількість | Технічна характеристика (виробник)   |
|---------|--|-----------|--|
| Л-1     | Лічильник питної води                              | 1         | Інтелектуальний електромагнітний витратомір питної води з нержавіючої сталі 316L від торгової марки «Macsensor», Китай. Діапазон потоку: 0-9999 м3/год; Номінальний тиск: 1,6 МПа.<br>[ <a href="https://macsensor.en.made-in-china.com/product/jXwJxTkAXdph/China-Food-Grade-Drinking-Water-Intelligent-Electromagnetic-2-Flow-Meter-Flow.html">https://macsensor.en.made-in-china.com/product/jXwJxTkAXdph/China-Food-Grade-Drinking-Water-Intelligent-Electromagnetic-2-Flow-Meter-Flow.html</a> ] ]  |
| УЗО -2  | Установка зворотнього осмосу для де іонізації води | 1         | Ультрафільтраційна система зворотнього осмосу KYUF-1000 бренду «Kaiyuan», Китай. Потужність 1000 л/год, точність 0,01 - 0,10 мікрон. Фільтр безпеки блокує домішки, що перевищують 1 мкм (5 мкм). Розміри: 1600 * 620 * 1850.[ <a href="https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/sOUQZKCTyrhw/China-1000lph-Ultrafiltration-Equipment-UF-Spring-Mineral-Drinking-Water-Purifier-Treatment-Plant.html">https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/sOUQZKCTyrhw/China-1000lph-Ultrafiltration-Equipment-UF-Spring-Mineral-Drinking-Water-Purifier-Treatment-Plant.html</a> ] ] |

|           |                |   |        |      |  |  |  |                       |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|--|--|--|-----------------------|-------|---------|
|           |                |   |        |      | <b>НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ</b>              |  |  |                       |       |         |
| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата | <b>РОЗДІЛ 4. СПЕЦИФІКАЦІЯ<br/>ОБЛАДНАННЯ</b> |  |  |                       |       |         |
| Розробник | Степенко А.В.  |   |        |      |  |  |  | Літера                | Арквш | Арквшів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |  |  |  |                       | 81    | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      |  |  |  | <b>Кафедра БТМ 81</b> |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |  |  |  |                       |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |  |  |  |                       |       |         |

|                                     |   |   |   |
|-------------------------------------|---|---|---|
| P-4                                 | Реактор для зберігання культуральної рідини | 1 | <p>Реактор-змішувач об'ємом 1 м<sup>3</sup> від торгової марки «JINJIANTAIYE», Китай, з нержавіючої сталі SS316L. Має зовнішній кожух для нагрівання та нижню спіраль для охолодження, лопатеву мішалку. Робоча температура від -100 до 300 °С. Двигун 5,5 кВт.</p> <p>[<a href="https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html">https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html</a> ]</p> |
| H-3<br>H-16<br>H-22<br>H-24<br>H-28 | Насос відцентровий                          | 5 | <p>Водяний насос низького тиску ISW/ISG 25-110 розроблений YONJOU, Китай. Матеріал: нержавіюча сталь, чавун, бронза. Максимальний тиск 16 бар, продуктивність: 4 м<sup>3</sup>/год, потужність 0,55 кВт.</p> <p>[<a href="https://yonjoupump.en.made-in-china.com/product/hSwnBgidpqWZ/China-Xbd-Pipeline-Centrifugal-Pump.html">https://yonjoupump.en.made-in-china.com/product/hSwnBgidpqWZ/China-Xbd-Pipeline-Centrifugal-Pump.html</a> ]</p>  |
| P-6<br>P-17<br>P-29<br>P-33         | Реактор-змішувач 3 м <sup>3</sup>           | 4 | <p>Реактор-змішувач об'ємом 3 м<sup>3</sup> від торгової марки «JINJIANTAIYE», Китай, з нержавіючої сталі SS316L. Має зовнішній кожух для нагрівання та нижню спіраль для охолодження, лопатеву мішалку. Робоча температура від -100 до 300 °С. Двигун 4-11 кВт.</p>  |

|   |   |    |   |
|---|---|----|---|
|   |   |    | <a href="https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html">[https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html ]</a>  |
| Н-5<br>Н-7<br>Н-9<br>Н-12<br>Н-14<br>Н-18<br>Н-23<br>Н-30<br>Н-32<br>Н-34 | Відцентровий насос для перекачування розчинів високої та середньої концентрації | 10 | Вертикальний багатоступеневий відцентровий насос високого тиску з нержавіючої сталі LQDL-5, торгова марка LYSON, Шанхай. Розміри : 120x100x60см. Продуктивність : 5 м <sup>3</sup> /год, потужність 5,5 кВт.<br><a href="https://lianshengpump.en.made-in-china.com/product/GjimBRzuZOHX/China-High-Pressure-Stainless-Steel-Vertical-Multistage-Centrifugal-Water-Booster-Pump.html">[https://lianshengpump.en.made-in-china.com/product/GjimBRzuZOHX/China-High-Pressure-Stainless-Steel-Vertical-Multistage-Centrifugal-Water-Booster-Pump.html]</a> |
| С-8   | Сепаратор   | 1  | Вертикальний сепаратор BPDC-400 з нержавіючої сталі торгової марки Reyes, Китай. Розміри: 1555*1130*1640. Пропускна здатність – 1000 – 2000 л/год. швидкість обертання – 7070 об/хв.<br><a href="https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDglUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html">[https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDglUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html]</a>   |

|      |                          |   |  |
|------|--------------------------|---|--|
| 3-11 | Збірник для супернатанту | 1 | Ємність 2 м <sup>3</sup> . Розміри: 1200×1200×2500. Матеріал - нержавіюча сталь 316L, з ізоляційним матеріалом. Товщина корпусу - 3 мм. Розрахунковий робочий тиск (МПа) від-0,1 до 1,6 МПа, Розрахункова робоча температура: -4 до +150 °С. Укомплектований герметичною кришкою, СІР-мийкою, респіратором, лопатевою мішалкою. Модель: RST2000 від «RAYEN», Китай [ <a href="https://rayentank.en.made-in-china.com/product/nCcxtiZJOgkl/China-Sanitary-Small-Tank-Stainless-Steel-1000-Litre-Tank.html">https://rayentank.en.made-in-china.com/product/nCcxtiZJOgkl/China-Sanitary-Small-Tank-Stainless-Steel-1000-Litre-Tank.html</a> ] |
| 3-10 | Збірник                  | 1 | Резервуар об'ємом 100 л з нержавіючої сталі SS316 від торгової марки LIENM, Китай. Розміри: 2,1x1,23x1,21, товщина корпусу - 4 мм. Має термометр, вимірювач та контролер рівня, санітарну вентиляційну витяжку, СІР-мийку, з'ємні ніжки з колесами [ <a href="https://www.alibaba.com/">https://www.alibaba.com/</a> ]   |
| В-13 | Випарний апарат          | 1 | Вакуумний кульовий випарник NZ-1000 від «JOSTON», Китай; Об'єм – 1000 л; випаровуваність – 160 кг/год; t – менше 60 °С. [ <a href="https://yinuomachine.en.made-in-china.com/product/iwlaHYtZhucP/China-Low-Temperature-Vacuum-Ball-Type-Evaporator-Concentration-Machine-with-PTFE-Scraper-Agitator-for-High-Viscosity-Product.html">https://yinuomachine.en.made-in-china.com/product/iwlaHYtZhucP/China-Low-Temperature-Vacuum-Ball-Type-Evaporator-Concentration-Machine-with-PTFE-Scraper-Agitator-for-High-Viscosity-Product.html</a> ]  |

|              |  |   |  |
|--------------|--|---|--|
| 3-15         | Збірник для зберігання абсолютного етанолу | 1 | Резервуар для зберігання з нержавіючої сталі виготовлений з SS316L відповідно до технічних умов GMP від Tianlong об'ємом 3000л. [ <a href="https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html">https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html</a> ]  |
| С-19         | Сепаратор                                  | 1 | Вертикальний сепаратор ВРДС-400 з нержавіючої сталі торгової марки Reyes, Китай. Розміри: 1555*1130*1640. Пропускна здатність – 1000 – 2000 л/год. швидкість обертання – 7070 об/хв. [ <a href="https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDglUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html">https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDglUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html</a> ] |
| К-20<br>К-26 | Конвеєр                                    | 2 | Стрічковий конвеєр Promark 01 від “Interroll” , Україна. Швидкість руху максимальна – 0,34 м/с, Навантаження: 0.001-150 кг, Розміри: 120×50 см   |

|      |                                      |   |  |
|------|--------------------------------------|---|--|
|      |                                      |   | <a href="https://zakupka.com/uk/p/1289737358-lentochnyy-konveyer-lentochnyy-transporter-120-x-60-sm/?e=1&amp;i=Xazpp1b76Uk4E_vwIxcz_Y8bSIMjy9mf0mINt6Ur3ZpiGIPOi_VdkN_PxRT2MNH5YjQELilj10xO08_ThBnm5NC72VjeoQQjzZBuCJAuuVmygw_2PFs4ykvfMg50woI2qYphAmqSZ8C959gzcBylupypnL2wgjmSOBGdbtC0ypzhVwTWP0-erErVoW9-tyZxdao8_RZQ2JvaZWN2-pNtyhSg==&amp;gclid=CjwKCAjwpuajBhBpEiwA_ZtfhQAg_tN3ByJFa21m10iYfij3Hqa6MeKd-92-YmqhYv85Xge_ZwZevBoCidQQAvD_BwE&amp;noLng=1">[https://zakupka.com/uk/p/1289737358-lentochnyy-konveyer-lentochnyy-transporter-120-x-60-sm/?e=1&amp;i=Xazpp1b76Uk4E_vwIxcz_Y8bSIMjy9mf0mINt6Ur3ZpiGIPOi_VdkN_PxRT2MNH5YjQELilj10xO08_ThBnm5NC72VjeoQQjzZBuCJAuuVmygw_2PFs4ykvfMg50woI2qYphAmqSZ8C959gzcBylupypnL2wgjmSOBGdbtC0ypzhVwTWP0-erErVoW9-tyZxdao8_RZQ2JvaZWN2-pNtyhSg==&amp;gclid=CjwKCAjwpuajBhBpEiwA_ZtfhQAg_tN3ByJFa21m10iYfij3Hqa6MeKd-92-YmqhYv85Xge_ZwZevBoCidQQAvD_BwE&amp;noLng=1 ]</a> . |
| P-24 | Реактор-змішувач<br>2 м <sup>3</sup> | 1 | <p>Реактор-змішувач об'ємом 2 м<sup>3</sup> від торгової марки «JINJIANTAIYE», Китай, з нержавіючої сталі SS316L. Має зовнішній кожух для нагрівання та нижню спіраль для охолодження, лопатеву мішалку. Робоча температура від -100 до 300 °С. Двигун 5,5 кВт.</p> <p><a href="https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html">[https://jinjianequip.en.made-in-china.com/product/swZtYIJVZATO/China-Chemical-Reaction-Vessel-Batch-Reactor-Continuous-Reactor-Mixer-Materials-Customized-.html ]</a></p>  |

|      |  |   |  |
|------|--|---|--|
| 3-21 | Збірник для зберігання абсолютного етанолу | 1 | Резервуар для зберігання з нержавіючої сталі виготовлений з SS316L відповідно до технічних умов GMP від Tianlong об'ємом 1000л. [ <a href="https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html">https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html</a> ]  |
| 3-27 | Збірник                                    | 1 | Резервуар для зберігання з нержавіючої сталі виготовлений з SS316L відповідно до технічних умов GMP від Tianlong об'ємом 2000л. [ <a href="https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html">https://wilsontech.en.made-in-china.com/product/OBTQzNmChWrY/China-Stainless-Steel-Top-Open-Ethanol-Storage-Tank.html</a> ]  |
| C-25 | Сепаратор                                  | 1 | Вертикальний сепаратор BPDC-300 з нержавіючої сталі торгової марки Reyes, Китай. Розміри: 950*950*1250. Пропускна здатність – 300-500 л/год. швидкість обертання – 7302 об/хв. [ <a href="https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDgIUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html">https://dlreyes.en.made-in-china.com/product/vSbxRWeDgIUJ/China-Biotech-and-Pharmaceutical-Disc-Stack-Centrifuge-Separator.html</a> ] |

|       |                              |   |   |
|-------|------------------------------|---|---|
| УФ-31 | Ультрафільтраційна установка | 1 | Ультрафільтраційна система Toray UFS 172T-S , Японія. Потужність 4 м3/год, Кількість і типорозмір мембран: 1 x HFU - 2020N; Площа фільтрації: 72 м2. [ <a href="https://prom.ua/ua/p1120568016-sistema-ultrafiltratsii-toray.html?&amp;primelead=MS41">https://prom.ua/ua/p1120568016-sistema-ultrafiltratsii-toray.html?&amp;primelead=MS41</a> ]  |
| РС-35 | Розпилювальна сушарка        | 1 | Відцентрова розпилювальна вакуумна сушарка CRT-SD10L від Xiamen CRTOP Machine, Китай. Продуктивність - 200-10 л/год; швидкість - 40 000 об/хв; розміри: 2500*1600*2800. [ <a href="https://www.crtopmachine.com/atomization-vacuum-milk-centrifugal-spray-dryer_p160.html">https://www.crtopmachine.com/atomization-vacuum-milk-centrifugal-spray-dryer_p160.html</a> ]   |
| ПС-36 | Пересувна ємність            | 1 | Пересувна ємність на колесах з кришкою об'ємом 100 л , розміри: 70,5×46,5×58 см, з поліпропілену . Araven, Іспанія. [ <a href="https://kaap-prof.com/yemnist-dlia-zberihannia-na-kolesakh-z-kryshko%D1%96u-100-l-705x465x58-sm.-z-polipropilenu-araven/?gclid=CjwKCAjwyeujBhA5EiwA5WD7_dGD4Ei0RzG7AjztNw8rZuu02VaZNYJ4KDwkRXJ8mNocSd46PuWnExoC-ekQAvD_BwE">https://kaap-prof.com/yemnist-dlia-zberihannia-na-kolesakh-z-kryshko%D1%96u-100-l-705x465x58-sm.-z-polipropilenu-araven/?gclid=CjwKCAjwyeujBhA5EiwA5WD7_dGD4Ei0RzG7AjztNw8rZuu02VaZNYJ4KDwkRXJ8mNocSd46PuWnExoC-ekQAvD_BwE</a> ] |

|       |                     |   |  |
|-------|---------------------|---|--|
| ФА-37 | Фасувальний автомат | 1 | Пакувальна машина з нержавіючої сталі торгової марки LTPM CHINA моделі LTWGF-W75S, Китай. Швидкість упаковки 5-12 шт/хв.; Об'єм бункера - 75 л ; Загальні розміри - 1205×1010×2174 мм. [ <a href="https://pharma-machinery.en.made-in-china.com/product/hEyYpDWMhJks/China-Touch-Screen-Dry-Powder-Filler-Machine-Manual-Powder-Packing-Machine.html">https://pharma-machinery.en.made-in-china.com/product/hEyYpDWMhJks/China-Touch-Screen-Dry-Powder-Filler-Machine-Manual-Powder-Packing-Machine.html</a> ] |
|-------|---------------------|---|--|

## РОЗДІЛ 5

### ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДЛЯ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

#### *ДР 1 Підготовка води*

#### *ДР 1.1. Деіонізація води*

Питна вода в об'ємі 2 м<sup>3</sup> через лічильник (Л-1) подається в установку зворотнього осмосу (УЗО-2) для деіонізації води з мембранами, діаметр пор яких 0,01 - 0,10 мікрон. Процес відбувається протягом 2 годин. Далі очищену воду подають відцентровим насосом (Н-3) у збірник (З-26) об'ємом 2 м<sup>3</sup>.

#### *ТП 2 Зберігання культуральної рідини*

Зберігається культуральна рідина об'ємом 0,97 м<sup>3</sup> після процесу біосинтезу у збірнику (Р-4) об'ємом 1 м<sup>3</sup> за температури 8-10°C (подачею оборотної води у сорочку). Далі подається на стадію попередньої обробки культуральної рідини перед відділенням біомаси (ТП 3).

#### *ТП 3 Попередня обробка культуральної рідини перед відділенням біомаси*

#### *ТП 3.1 Розведення культуральної рідини перед відділенням біомаси*

Культуральна рідина (від стадії ТП 2) перекачується відцентровим насосом (Н-5) до реактора-змішувача (Р-6) об'ємом 3 м<sup>3</sup>. Туди ж через лічильник (Л -1 ) подається 1,9 м<sup>3</sup> питної води. В сорочку реактора подають глуху пару до температури 40 °С. Розчин культуральної рідини перемішується за допомогою лопатевої мішалки за швидкості 200 об/хв до повного розчинення (орієнтовно близько 2 год). Далі розведена культуральна рідина подається на стадію відділення біомаси (до ТП 4).

| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата | НОУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ  |                |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|--|----------------|-------|---------|
| Розробник | Степенко А.В.  |   |        |      | РОЗДІЛ 5. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДЛЯ ПІСЛЯФЕРМЕНТАЦІЙНОГО ВИДІЛЕННЯ І ОЧИЩЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ | Літера         | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |  |                | 90    | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      |  | Кафедра БТМ 90 |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |  |                |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |  |                |       |         |

## *ТП 4 Відділення біомаси*

### *ТП 4.1. Сепарування культуральної рідини*

Розведену культуральну рідину (від ТП 3.1) відцентровим насосом (Н-7) подають до сепаратора (С-8), де відбувається сепарування зі швидкістю 7070 об/хв, продуктивність – 1000 л/год протягом 1,5 год . Відділений супернатант об'ємом 1,6 м<sup>3</sup> перекачують у збірник об'ємом 2 м<sup>3</sup> (З-11) для подальшого очищення (до ТП 5.1)

### *ТП 5 Очищення супернатанту від меланіну*

#### *ТП 5.1 Обробка супернатанту 33% перекисом водню*

Супернатант (від ТП 4.1) відцентровим насосом (Н-9) перекачують у збірник об'ємом 2 м<sup>3</sup> (З-11), туди ж самоплином подається, зі збірника об'ємом 100 л (З-10), 0,064 м<sup>3</sup> 33 % перекису водню. Ця суміш перемішується протягом 15 хв лопатевою мішалкою зі швидкістю 50 об/хв за кімнатної температури. Супернатант, що містить звільнений від меланіну пулулан, подаємо на стадію концентрування супернатанту (до ТП 6).

### *ТП 6 Концентрування супернатанту*

#### *ТП6.1 . Випарювання супернатанту*

До вакуумного випарного апарату (В-13) відцентровим насосом (Н-12) подають супернатант, що містить звільнений від меланіну пулулан, об'ємом 1,62 м<sup>3</sup> (від ТП 5.1), де відбувається випаровування за тиску 0,09 МПа протягом 5 год. Утворений концентрат подається на наступну стадію (до ТП 7.1).

### *ТП 7 Виділення пулулану*

#### *ТП 7.1. Осадження пулулану етанолом*

Концентрат із вологістю 50% об'ємом 0,79 м<sup>3</sup> (від ТП 6.1) подається відцентровим насосом (Н-14) до реактора-змішувача (Р-17) 3 м<sup>3</sup>. Туди ж зі збірника

об'ємом  $3 \text{ м}^3$  (З-15) відцентровим насосом (Н-16) подається  $1,58 \text{ м}^3$  99,9%-й етилового спирту. Лопатевою мішалкою зі швидкістю 200 об/хв протягом 5 хв суміш перемішується і залишається  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  на 24 год. Далі ця водно-спиртова суміш із осадом пулулану подається на наступну стадію (до ТП 7.2).

#### *ТП 7.2. Відділення осаду пулулану сепаруванням*

Водно-спиртова суміш із осадом пулулану об'ємом  $2,29 \text{ м}^3$  (від ТП 7.1) перекачується (Н-18) до сепаратора (С-19) де відбувається сепарування зі швидкістю 7070 об/хв, продуктивністю 1000 л/год протягом 2,5 год. Вологий осад пулулану (97 кг) подаємо на наступну стадію (до ТП 7.3), а  $1,59 \text{ м}^3$  водно спиртової суміші – на регенерацію спирту.

#### *ТП 7.3. Зневоднення осаду пулулану промиванням чистим етанолом*

Конвеєром (К-20) подаємо осад (від ТП 7.2) до реактора-змішувача  $2 \text{ м}^3$  (Р-23). Туди ж подаємо  $0,35 \text{ м}^3$  99,9%-го розчину етанолу зі збірника об'ємом  $1 \text{ м}^3$  (З-21) відцентровим насосом (Н-22). Лопатевою мішалкою зі швидкістю 50 об/хв протягом 15 хв суміш перемішується і подається на наступний етап (до ТП 7.4).

#### *ТП 7.4. Відділення осаду пулулану центрифугуванням*

Відцентровим насосом (Н-24) перекачуємо водно-спиртову суміш з осадом пулулану об'ємом  $1,05 \text{ м}^3$  (від ТП 7.3) до сепаратора (С-25), де вона центрифугується зі швидкістю 7302 об/хв, продуктивністю 500 л/год протягом 2 год. Зневоднений осад пулулану (96 кг) подається на наступну стадію (до ТП 7.1), а водно-спиртова суміш об'ємом  $0,68 \text{ м}^3$  – на регенерацію спирту.

### *ТП 8 Очищення пулулану*

#### *ТП 8.1. Розчинення осаду пулулану*

Зневоднений осад пулулану (від ТП 7.4) конвеєром (К-26) подаємо до реактора-змішувача  $3 \text{ м}^3$  (Р-29). Туди ж відцентровим насосом (Н-28) зі збірника  $2 \text{ м}^3$  (З-27) подаємо  $1,85 \text{ м}^3$  деіонізованої води. В сорочку подається пара до досягнення температури  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Лопатевою мішалкою зі швидкістю 200 об/хв

протягом 2 год розчин переміщується до повного розчинення і відправляється на ультрафільтрацію (до ТП 8.2)

#### *ТП 8.2. Ультрафільтрація розчину пулулану*

2,22 м<sup>3</sup> розчину пулулану (від ТП 8.1) відцентровим насосом (Н - 30) подається до ультра фільтраційної установки (УФ-31) з діаметром пор 0,01 до 0,10 мікрона приблизно на 2 год. Розділений ультра концентрат (0,43 м<sup>3</sup>) подаємо на наступну стадію (до ТП 8.3), а 1,78 м<sup>3</sup> супернатанту - на утилізацію.

#### *ТП 8.3. Розведення ультра концентрату пулулану*

0,43 м<sup>3</sup> ультраконцентрату пулулану (від ТП 8.2.) відцентровим насосом (Н -32) перекачуємо до реактора-змішувача об'ємом 3 м<sup>3</sup> (Р-33). Туди ж через лічильник (Л-1) подаємо 2,2 м<sup>3</sup> питної води. В сорочку подається пара до досягнення температури 40 °С. Лопатевою мішалкою зі швидкістю 200 об/хв протягом 2 год розчин переміщується до повного розчинення і подається на стадію сушіння (до ТП 8.4).

#### *ТП 8.4. Сушіння пулулану*

Розчин ультра концентрату об'ємом 2,63 м<sup>3</sup> (від ТП 8.3) відцентровим насосом (Н-34) подаємо у відцентрову розпилювальну вакуумну сушарку (РС-35). Процес відбувається зі швидкістю випаровування 200 л/год 19 год. Після чого утворюється 88 кг сухого пулулану, що завантажується у пересувну ємність (ПЄ -36) на 100 л.

### *ПВМ 9. Фасування, маркування і відвантаження*

#### *ПВМ 9.1. Фасування, маркування і відвантаження порошку пулулану*

88 кг сухого пулулану (від ТП 8.4) завантажується у фасувальний автомат (ФА-37), який упакує його у поліетиленові пакети по 100 г зі швидкістю 5 пак/хв.. На кожному пакеті маркуванням зазначають назву та адресу виробника, назву продукту, дату виготовлення, номер партії та умови зберігання. Далі такі пакети відправляються до складу.

## РОЗДІЛ 6 КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

### Методики контролю пулулану

#### 6.1. Визначення вмісту та молекулярної маси пулулану

Визначення вмісту та молекулярної маси пулулану проводять за допомогою високоефективної гельпроникаючої хроматографії на апараті Shimadzu (LC20AT, Shimadzu Corp., Японія) оснащеного детектором показника заломлення і колонки і колонка TSK-gel GMPWXL (7,8 × 300 мм, Tosoh Corp., Японія). молекули речовин розділяються за розміром за рахунок їх різної здатності проникати в пори носія. При цьому першими виходять з колонки найбільші молекули (з великою молекулярною масою), здатні проникати у мінімальну кількість пор носія. Останніми виходять речовини з малими розмірами молекул, що вільно і глибоко проникають у пори сорбенту. Детальні умови хроматографії наступні – рухома фаза, 0,05 М розчин NaNO<sub>3</sub>; швидкість потоку 0,6 мл/хв; температура колонки 35 °С; температура детектора 40 °С; об'єм ін'єкції 20 мкл; концентрація проби 5 мг/мл (Liu, Zhang, Wang, 2021).



Рис.6.1 Апарат Shimadzu LC20AT ( Shimadzu Corp., Японія) для високоефективної гельпроникаючої хроматографії

|           |      |                |        |      |   |  |  |                    |       |         |
|-----------|------|----------------|--------|------|---|--|--|--------------------|-------|---------|
|           |      |                |        |      | <b>НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ</b>   |  |  |                    |       |         |
| Зм        | Арк. | №              | Підпис | Дата | <b>РОЗДІЛ 6. КОНТРОЛЬ<br/>ВИРОБНИЦТВА<br/>СУБСТАНЦІЇ ДЛЯ<br/>ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ</b> |  |  |                    |       |         |
| Розробник |      | Степенко А.В.  |        |      |   |  |  | Літера             | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  |      | Пирог Т.П.     |        |      |   |  |  |                    | 94    | 150     |
| Н. контр  |      |                |        |      |   |  |  | <b>Кафедра БТМ</b> |       |         |
| Консульт  |      |                |        |      |   |  |  |                    |       |         |
| Зав. каф. |      | Стабніков В.П. |        |      |   |  |  |                    |       |         |

## 6.2. Визначення вологості препарату

Визначення вологості під час стадій виділення та очищення пулулану буде відбуватися за допомогою лабораторних вагів KERN DAB 200-2, які призначені для зважування і визначення вологості різних матеріалів. Для цього ваги мають нагрівальну камеру, яка може нагріватися до 199°C. У цій камері прилад висушує зважуваний зразок, а потім обчислює вміст води з різницею у вазі. Завдяки дискретності 0,01 г можуть бути визначені найнижчі різниці у вазі. Результати відображаються на великому РК-дисплеї. У пам'яті пристрою можна зберігати до 15 різних програм сушіння. Крім того, ваги можна також підключити до ПК через інтерфейс

RS-2320

([https://pragmatic.com.ua/kern\\_dab200\\_2?gclid=Cj0KCQjwj\\_ajBhCqARIsAA37s0z3oMJOM1htRXQ6EPGSg2-\\_I81Tsemjj3z5ujnQe\\_3bCxRNn03NxB8aAqdXEALw\\_wcB](https://pragmatic.com.ua/kern_dab200_2?gclid=Cj0KCQjwj_ajBhCqARIsAA37s0z3oMJOM1htRXQ6EPGSg2-_I81Tsemjj3z5ujnQe_3bCxRNn03NxB8aAqdXEALw_wcB) ).



Рис.6.2. KERN DAB 200-2 аналізатор вологості з пам'яттю

## 6.3. Визначення вмісту пулулану у напівфабрикатах і готовій субстанції

Визначення вмісту пулулану у напівфабрикатах і готовій субстанції проводять ваговим методом. Готуємо 1% розчин пулулану: 0,5 г розчиняємо у 50 мл води.

Осаджуємо 3-ма об'ємами етанолу. Осад промиваємо чистим етанолом і висушуємо при температурі 70 °С до постійної маси. Далі робимо перерахунок на вміст сухого пулулану у продукті (не менше 90 %).

Таблиця 6

**Карта постадійного контролю**

| Номер контрольної точки та назва стадії   | Об'єкт контролю та показник, що визначається  | Засоби та методи контролю                    | Періодичність перевірки та відбору проб              | Нормативні значення показника  |
|---|---|--|--|--|
| 1   | 2   | 3  | 4  | 5  |
| ДР 1.1<br>Деіонізація води,<br>Кт, Км   | Вода після зворотнього осмосу<br>ступінь очищення від солей   | Електрокодуктометр                           | після проходження через установку зворотнього осмосу | Концентрація домішок $\geq$ менше 1 ppm  |
| ТП 2<br>Зберігання культуральної рідини,<br>Кт  | Культуральна рідина <i>Aureo-basidium pullulans</i> UVMU6-1, що містить пулулан;<br>Температура       | Датчик температури                           | Безперервно протягом процесу                         | $t^{\circ} = 8-10^{\circ}\text{C}$   |
| ТП 3.1<br>Розведення культуральної рідини перед відділенням біомаси<br>К <sub>т</sub> | Розчин культуральної рідини з питною водою;<br>Частота обертів,<br>Температура;<br>Тривалість процесу | Датчик температури,<br>тахометр,<br>годинник | Безперервно протягом процесу                         | $t^{\circ} = 40^{\circ}\text{C}$<br>n= 200 об/хв<br>Т – до повного розчинення ( $\approx 2$ год) |

|  |   |  |   |  |
|--|---|--|---|--|
| <p>ДР 4.1<br/>Сепарування<br/>культуральної<br/>рідини<br/>К<sub>Т</sub></p>                   | <p><i>Розділена<br/>культуральна<br/>рідина;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу,<br/>Вологість<br/>біомаси,<br/>Вміст пулулану</p> | <p>тахометр,<br/>годинник,<br/>аналізатор<br/>вологості,<br/>хроматограф</p> | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p> | <p>n= 7070<br/>об/хв<br/>Т = 1,5 год,<br/>W = 90%<br/>m = 65 г/л</p> |
| <p>ТП 5.1<br/>Обробка<br/>супернатант<br/>у 33%<br/>перекисом<br/>водню.<br/>К<sub>Т</sub></p> | <p><i>Оброблений<br/>супернатант;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу,<br/>Температура;<br/>Вміст пулулану</p>                      | <p>Датчик<br/>температури,<br/>тахометр,<br/>годинник,<br/>хроматограф</p>   | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p> | <p>t° = 20-25°C<br/>n= 50 об/хв<br/>Т = 15 хв<br/>m = 63 г/л</p>     |
| <p>ТП 6.1.<br/>Випарювання<br/>супернатант<br/>у<br/>К<sub>Т</sub></p>                         | <p><i>Концентрат;</i><br/>Тиск;<br/>Тривалість<br/>процесу;<br/>Вологість<br/>концентрату,<br/>Вміст пулулану</p>                                   | <p>годинник,<br/>манометр,<br/>аналізатор<br/>вологості,<br/>хроматограф</p> | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p> | <p>P = 0,09<br/>МПа,<br/>Т = 5 год;<br/>W = 50%;<br/>m = 128 г/л</p> |

|  |   |  |  |  |
|--|---|--|--|--|
| <p>ТП 7.1.<br/>Осадження<br/>пулулану<br/>етанолом<br/>К<sub>т</sub></p>   | <p><i>Осад;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу,<br/>Температура,<br/>Вміст пулулану</p>                          | <p>Датчик<br/>температури,<br/>тахометр,<br/>годинник,<br/>хроматограф</p>   | <p>Частота<br/>обертів,<br/>Тривалість –<br/>протягом<br/>перемішуван<br/>ня;<br/>Температура<br/>та час<br/>осідання –<br/>після<br/>перемішуван<br/>ня</p> | <p>n= 200<br/>об/хв<br/>T = 5 хв<br/>t° = 24°C<br/>T = 24 год<br/>m = 43 г/л</p> |
| <p>ТП 7.2.<br/>Відділення<br/>осаду<br/>пулулану<br/>сепаруванням,<br/>К<sub>т</sub></p>                         | <p><i>Вологий осад<br/>пулулану;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу;<br/>Вологість осаду;<br/>Вміст пулулану</p> | <p>тахометр,<br/>годинник,<br/>аналізатор<br/>вологості,<br/>хроматограф</p> | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p>  | <p>n= 7070<br/>об/хв<br/>T = 2,5 год<br/>W = 90%<br/>m = 138 г/л</p>             |
| <p>ТП 7.3.<br/>Зневоднення<br/>осаду<br/>пулулану<br/>промиванням<br/>чистим<br/>етанолом,<br/>К<sub>т</sub></p> | <p><i>Зневоднений осад;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу</p>   | <p>тахометр,<br/>годинник</p>  | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p>  | <p>n= 50 об/хв<br/>T = 15 хв</p>   |
| <p>ТП 7.4.<br/>Відділення<br/>осаду<br/>пулулану<br/>центрифугува<br/>нням, К<sub>т</sub></p>                    | <p><i>Осад;</i><br/>Частота обертів,<br/>Тривалість<br/>процесу,<br/>Вологість осаду,<br/>Вміст пулулану</p>                      | <p>тахометр,<br/>годинник,<br/>аналізатор<br/>вологості,<br/>хроматограф</p> | <p>Безперервно<br/>протягом<br/>процесу</p>  | <p>n= 7302<br/>об/хв<br/>T = 2 год<br/>W = 45%<br/>m = 259 г/л</p>               |

|   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|
| ТП 8.1.<br>Розчинення<br>осаду<br>пулулану,<br>Кт                   | <i>Розчин осаду<br/>пулулану;</i><br>Частота обертів,<br>Температура;<br>Тривалість<br>процесу                        | Датчик<br>температури,<br>тахометр,<br>годинник                 | Безперервно<br>протягом<br>процесу  | $t^{\circ} = 40^{\circ}\text{C}$<br>$n = 200$<br>об/хв<br>$T = 2$ год                 |
| ТП 8.2.<br>Ультрафільт<br>рація розчину<br>пулулану,<br>Кт          | <i>Ультрафільтрат;</i><br>Тривалість<br>процесу;<br>Вміст пулулану  | Годинник,<br>хроматограф  | Безперервно<br>протягом<br>процесу  | $T = 2$ год;<br>$m = 214$ г/л   |
| ТП 8.3.<br>Розведення<br>ультра<br>концентрату<br>пулулану,<br>Кт   | <i>Розчин ультра<br/>концентрату;</i><br>Частота обертів,<br>Температура;<br>Тривалість<br>процесу,<br>Вміст пулулану | Датчик<br>температури,<br>тахометр,<br>годинник,<br>хроматограф | Безперервно<br>протягом<br>процесу  | $t^{\circ} = 40^{\circ}\text{C}$<br>$n = 200$<br>об/хв<br>$T = 2$ год<br>$m = 35$ г/л |
| ТП 8.4.<br>Сушіння<br>пулулану,<br>Кт                               | <i>Висушений<br/>пулулан;</i><br>тривалість<br>процесу;<br>Вологість<br>продукту;<br>маса                             | Годинник,<br>аналізатор<br>вологості,<br>ваги                   | Маса – після<br>процесу<br>сушіння<br>Всі інші<br>показники –<br>безперервно<br>протягом<br>процесу | $T = 19$ год,<br>$W = 10\%$ ,<br>$m = 88$ кг  |
| ПВМ 9.1.<br>Фасування,<br>маркування і<br>відвантажен<br>ня порошку | <i>Готовий продукт;</i><br>Швидкість<br>пакування;<br>Кількість<br>продукту в   | Ваги;<br>Годинник.<br>Хроматограф,<br>Аналізатор<br>вологості   | Вологість<br>продукту;<br>Молекулярна<br>маса<br>продукту –   | $V = 5$<br>пак/хв,<br>$m = 100$ г,<br>$M =$<br>$1,5 \times 10^4$ -                    |

|                        |   |  |  |                                   |
|------------------------|---|--|--|-----------------------------------|
| <i>пулулану,</i><br>Кт | упаковці;<br>Вологість<br>продукту;<br>Молекулярна маса<br>продукту |  | до процесу<br>пакування;<br>Швидкість<br>пакування та<br>кількість<br>продукту в<br>упаковці -<br>Під час<br>пакування | $1,2 \times 10^7$ Да,<br>W = 6-8% |
|------------------------|---|--|--|-----------------------------------|

## РОЗДІЛ 7

### ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

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

За даними 2022 року Міжнародної діабетичної федерації, кількість хворих на цукровий діабет 1 типу в Україні типу становить 128 701 осіб, 32 093 (приблизно 25 %) з яких діти, підлітки та молодь до 20 років, для яких постійні ін'єкції є досить важким психологічним фактором (Ogle, Wang, & Maniam, 2022).

Отже, кількість необхідних ТДП становить :

$$П = 1 \text{ доза} \times 365 \text{ днів} \times 128 \text{ 701 хворих} = 46 \text{ 975 865 штук}$$

Ін'єкції інсуліном за допомогою шприца, шприц-ручки, інсулінової помпи є традиційними методами лікування цукрового діабету. До них звикли і користуються мільйони людей, ми ж пропонуємо альтернативу – новий неінвазивний спосіб доставки за допомогою трансдермального пластиру на основі мікроголок завантажених інсуліном. Так, як це буде не єдиний лікарський препарат для лікування, а також абсолютно інноваційний, який попередньо не ще не випускався, ми рахуємо, що потреба в ньому складає не більше 20 % на даний момент, з розрахунку на використання його як в Україні так і експорту закордон.

Тоді потужність нашого виробництва складе:

$$G_{гп} = 46 \text{ 975 865} \times 0,2 = 9 \text{ 395 173 шт/рік.}$$

Також врахуємо 10% можливих браків, втрат під час технологічного процесу, пакування, зберігання, транспортування та непередбачуваних обставин.

$G_{гп} = (9 \text{ 395 173} \times 0,1) + 9 \text{ 395 173} = 10 \text{ 334 690,3} \approx 10 \text{ 334 690 шт}$   
трансдермальних пластирів на основі мікроголок, заповнених інсуліном на рік.

|           |               |   |        |      |  |                    |       |         |
|-----------|---------------|---|--------|------|--|--------------------|-------|---------|
|           |               |   |        |      | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ   |                    |       |         |
| Зм        | Арк.          | № | Підпис | Дата |  |                    |       |         |
| Розробник | Степенко А.В. |   |        |      | РОЗДІЛ 7. ОБГРУНТУВАННЯ<br>ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЧНОЇ<br>СХЕМИ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ<br>ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ | Літера             | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.    |   |        |      |  |                    | 101   | 150     |
| Н. контр  |               |   |        |      |  | Кафедра БТМ<br>101 |       |         |
| Консульт  |               |   |        |      |  |                    |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П |   |        |      |  |                    |       |         |

Створений нами, пулулан запакований у поліетиленові пакети, що подовжує тривалість його зберігання (через уникнення більшості шкідливих факторів навколишнього середовища), а також дозволяє нам не прив'язуватися до циклів виробництва пулулану. Тому в подальших розрахунках їх не враховуємо.

В промислових умовах процеси розчинення пулулану та створення розчинів протікатимуть швидше (до 4-х годин), але зважимо на те, що нам необхідно буде робити велику кількість пластирів за цикл, розміром по 8\*8 м<sup>2</sup>, на це необхідно більше часу, оскільки наповнюватись буде не одна форма за цикл, так як це не рентабельно. Тому ми не можемо знизити кількість годин задля зниження витрат на електроенергію та заробітну плату персоналу, але ми можемо скоротити кількість трудоднів, що дасть такий же результат. Кількість робочих трудоднів буде становити Трд = 20 днів.

Розрахуємо кількість виробничих циклів на рік :

$$N_{\text{цк}} = \frac{24 \cdot \text{Трд}}{T_{\text{цф}}} = \frac{24 \cdot 20}{24} = 19,8 \approx 20,$$

де, 24 – це кількість годин в добі.

Кількість продукту за цикл, шт /цикл

$$G_{\text{цк}} = \frac{V_{\text{нт}}}{N_{\text{цк}}} = \frac{10\,334\,690}{20} = 516\,734,5 \approx 516\,735$$

## 7.2. Обґрунтування вибору класів чистоти виробничих приміщень

Згідно GMP в галузі виробництва ліків, біотехнології, медицини, оптики, мікромеханіки, харчової промисловості передбачається створення умов чистого приміщення, що контролює вміст мікроорганізмів, часточок та хімічних речовин у повітрі та на поверхнях. Виробниче приміщення проектується таким чином, що зумовить відповідність класифікації (GMP Insiders, 2022; Карлаш, 2019):

Клас А (ISO 5) – потребує максимально стерильних умов (асептичне приготування та змішування, поповнення стерильних сипучих продуктів, контейнерів і закупорювальних засобів, постановка та транспортування стерильних компонентів первинної упаковки, робота з наповненням та запаюванням ампул для

ін'єкцій) (рис. 2.2). Максимально допустима доза часточок у повітрі даного класу складає 3520 частинок  $\geq 0,5$  мкм на  $m^2$  як в оснащеному стані (в приміщенні працює вентиляція, опалення, встановленні комунікації та апаратура, яка не знаходиться в режимі роботи, а також відсутній персонал), так і в функціонуючому стані (в приміщенні також працює персонал та апаратура). В нашому випадку трансдермальний пластир на основі мікроголок доставляє препарат у кров'яне русло (Sinsuwanrak, Premanoch, & Adulyaritthikul, 2023), оминаючи нервові закінчення, тому, задля унеможливлення ускладнення для пацієнта у вигляді інфекції, доцільно буде створити умови даного класу для процесів приготування 24 % розчину пулулану та розчину пулулану з інсуліном, а також для створення кожного шару трансдермального пластиру. Наша апаратура не фармацевтичного призначення, але ми можемо створити умови, що будуть відповідати вимогам:

- Розробка проекту та будівництво згідно стандарту ISO 14644-4;
- Дизайн приміщення, що забезпечить необхідні вимоги чистоти: стіни, що складаються з сандвіч-панелей із нержавіючої сталі, наповнені скло волоконною масою; мінімізація кількості дверей, наливна підлога; стіни і стеля, а також стіни і підлога з'єднані заокругленими плінтусами. Це все дозволить легко дезінфікувати поверхні;
- Відведення можливого пилу, фільтрація повітря за допомогою фільтрів HEPA;
- Ламінарний потік повітря забезпечений за допомогою відповідної вентиляції;
- Встановлення повітряних шлюзів між приміщеннями різних класів чистоти;
- Регулярна дезінфекція обладнання та поверхонь;
- Навчання персоналу поведінки, переодягання, відповідної гігієни використання спеціального одягу.

Клас В (ISO 5) - Максимально допустима доза часточок у повітрі даного класу складає 3520 частинок  $\geq 0,5$  мкм на  $m^2$  в оснащеному стані та 352 000 частинок  $\geq 0,5$  мкм  $m^2$  – у функціональному. Зазвичай це зона, що оточує клас чистоти А.

Клас С (ISO 7 – оснащений стан, ISO 8 – функціональний стан) – допускається 352 000 частинок  $\geq 0,5$  мкм на  $m^2$  в обидвох станах. Під час нашого виробництва

використаємо його для етапу вирізання форми трансдермальних пластирів та відклеювання їх від форми. А також для зберігання сировини.

Клас D (ISO 8) – як і клас C підходить для виробництва менш значущих етапів стерильного виробництва, або створення нестерильних продуктів, оскільки рекомендована максимальна кількість часточок у повітрі становить 3 520 000 частинок  $\geq 0,5$  мкм. Даний клас чистоти буде використаний для пакування та транспортування трансдермальних пластирів на основі мікроголок. А також тут може проводитись обробка деталей, устаткування та додаткових компонентів після процедури миття; збірка очищених елементів, устаткування та додаткових аксесуарів перед проведенням стерилізації.

### **7.3. Обґрунтування вибору підготовки первинної упаковки**

В попередніх розділах було обґрунтовано, що первинною упаковкою трансдермального пластиру на основі мікроголок буде контурно-чарункове пакування виготовлене з фольги Protect™ 470, але спосіб відкривання блістера буде шляхом відшарування фольги від каркасу.

Для цього ми маємо розробити дизайн, особливістю якого буде утворення перфорованих ліній для легкого відділення кожного трансдермального пластиру, та створення спеціального механізму "easy peel", коли край фольги залишається не приклеєним для легкості відшарування від каркасу блістера, але й важливо, щоб це було зроблено таким чином, щоб забезпечити збереження цілісності та якості ліків, які знаходяться в блістері. Такий механізм має бути застосований для кожної чарунки окремо (Рис. 7.3.).

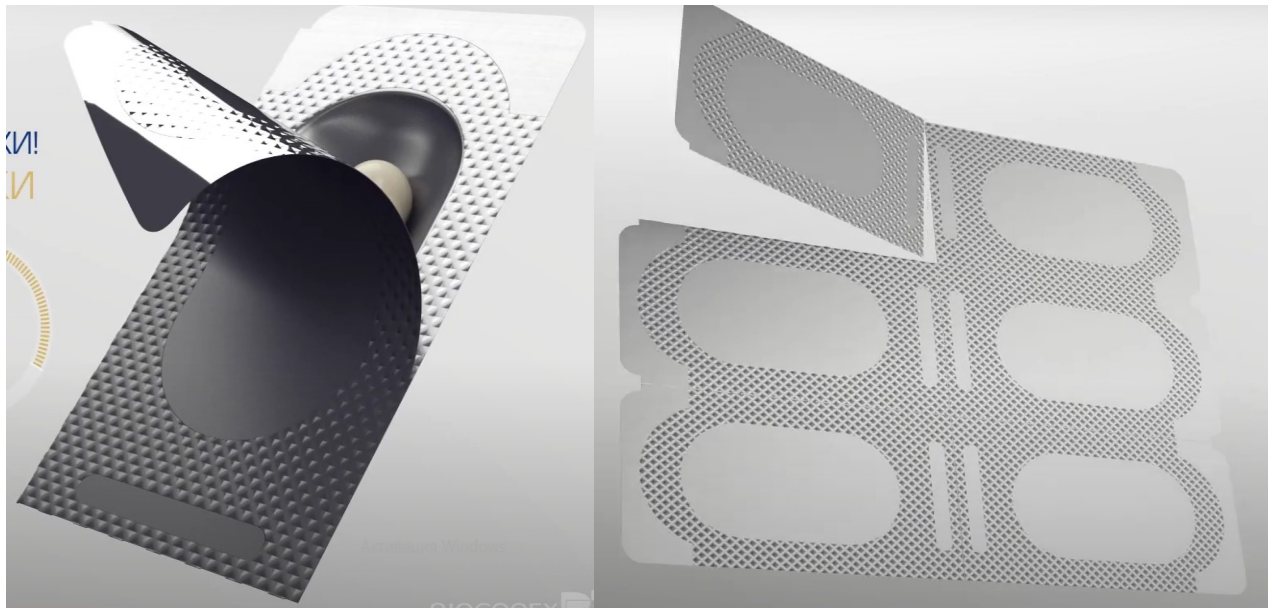


Рис. 7.3.1 Демонстрація блістера для ЛЗ «Ентерол 250»

( [https://www.youtube.com/watch?v=USSL\\_3pWx7I](https://www.youtube.com/watch?v=USSL_3pWx7I) )

Всі умови може виконати «Пакувальна машина для блістерної упаковки DPP-160», Шанхай, Китай, яка має сертифікат ISO та відповідає вимогам GMP. Машина використовує сегментовану комбінацію: формування ПВХ, подача, термозварювання для секції, холодне формування з алюмінію, термозварювання, штампування секції. Виробнича потужність 2400 блістерів /год (Рис. 7.3.2.).



Рис.7.3.2. Пакувальна машина для блістерної упаковки DPP-160  
(<https://laole021.en.made-in-china.com/product/CJEUrjYBOMVk/China-Dpp160-Pharmaceutical-Thermoforming-Tablet-Pill-Capsule-Blister-Packing-Machine.html> )

#### 7.4. Обґрунтування вибору підготовки води

Під час усього технологічного процесу від культивування *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 до виготовлення трансдермального пластира знадобиться:

- Питна вода (на етапі попередньої обробки культуральної рідини перед відділенням біомаси; розведення ультра концентрату пулулулану; деіонізації води; на стадіях очищення обладнання);

- Деіонізована вода (для розчинення осаду пулулулану);

- Надчиста вода (для приготування 24%-го розчину пулулулану).

Очищати водопровідну воду до питної одразу на підприємстві є вигідніше і зручніше ніж купувати окремо, а також це зменшить кількість додаткових маніпуляцій у зв'язку з її зберіганням. Існує 4 основних групи установок для утворення питної води (Kravchenko, Voloshkina, & Vasylenko, 2021) :

•З механічним фільтром (видалення лише крупних домішок);

•Сорбційного типу на основі активованого вугілля, або його комбінація з целюлітами, шунгітами, іонообмінними смолами (видалення органічних речовин, солей важких металів,). Такі комбінації показують найкращі результати очищення і покращення смаку та якості води;

•Електрохімічного типу (видалення солей жорсткості, заліза, міді). Але таке даний спосіб в порівнянні з попереднім є менш ефективним (у 2 рази);

•Мембранного та мембранно-сорбційного типу (економічно вигідний).

Оптимальним варіантом для виробництва – є встановлення сорбційної установки, фільтруючим матеріалом якої є іонообмінна смола від фірми Ecosoft типу FU1252CI з продуктивністю 2,9-3,6 м<sup>3</sup>/год (<https://ecosoft.ua/ua/filtrumyagcheniya-vody-ecosoft-fu1252ci/> ). Також використання питної «пом'якшеної» подовжить термін служби нашої апаратури.

Деіонізація води заключається у видаленні мінеральних солей. Для такого очищення ми обрали використання комбінованого методу – ультрафільтраційну систему зворотнього осмосу, що включає в себе дві мембрани: ультрафільтраційну та зворотнього осмосу (<https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/sOUQZKCTyrhw/China-1000lph-Ultrafiltration-Equipment-UF-Spring-Mineral-Drinking-Water-Purifier-Treatment-Plant.html> ). Це дає нам ряд переваг:

- Забезпечує високий ступінь очищення води (видаляє не лише іони мінеральних солей, а й органічні речовини, бактерії та віруси);

- Енергоефективний;

- Потребує найменші затрати води;

- Генерує меншу кількість відходів.

Під час експериментального виготовлення трансдермального пластира на основі мікроголок для процесу приготування 24-% розчину пулулану використовували надчисту воду 1 типу (згідно зі стандартами ASTM (American Society for Testing and Materials) та ISO 3696) електроопір якої 18.2 МΩсм при 25 °С (Fonseca, Costa, & Freire, 2020). Такі вимоги можливо забезпечити в промислових умовах завдяки Системі електродеіонізації EDI з нержавіючої сталі 500LPH, що складається з наступних етапів: насос для сирової води → фільтр з кварцового піску → фільтр з активованим вугіллям → пом'якшувач води → захисний фільтр → одноступеневий насос високого тиску → одноступенева система зворотного осмосу → двоступеневий насос високого тиску → двоступенева система зворотного осмосу → УФ-стерилізатор → система надчистої води EDI → надчиста вода. Дана установка здатна обробити 500 л/год водопровідної води зі швидкістю відновлення 60% . Але на нашому підприємстві попередньо стоятиме фільтр, який очищатиме воду до питної. Тому надчиста вода буде утворюватися вже з очищеної та «пом'якшеної води» (<https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/cyoQDrpxOLVH/China-500lph-Stainless-Steel-Electrodeionization-EDI-Ultracpure-Water-System.html> ).

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

### **7.5.1. Методика виготовлення трансдермальних пластирів у лабораторних умовах**

Згідно статті (Fonseca, Costa, & Freire, 2020) виготовлення трансдермальних пластирів на основі пірамідальних мікроголок в лабораторних умовах відбувалося шляхом лиття розчину пулулану на матриці з силікону (полідиметилсилоксану). Пулулан 0,15г розчиняли у 0,49 мл надчистої води при постійному перемішуванні протягом ночі для отримання концентрації 24%. Проводили вимірювання густини та динамічної в'язкості розчину ротаційним приладом SVM3000 Anton Paar. Навантаження пластиру інсуліном (12,4 МО) відбувалося двоетапним методом лиття. Таким чином, 2,7 мг інсуліну розчиняли в 0,3 мл 0,01 М водного розчину HCl і додавали в 0,5 мл 24% -го розчину пулулану. Потім створювали перший шар: 40 мкл пулулану з інсуліном наносили на силіконову матрицю центрифугували при 6000 об/хв протягом 30 хвилин задля остаточного заповнення розчином пулулану пірамідальних отворів матриці. Цю маніпуляцію повторювали два рази. Далі на цей відцентрифугований шар додавали 60 мкл розчину пулулану, знову центрифугували і залишали на ніч при 30 °С. Наступним кроком було відклеювання мікроголкового пластиря з пулулану, що містив інсулін від матриці, який поміщали в ексікатор.

### **7.5.2 Адаптація лабораторного процесу до промислового**

Врахуємо, що створення пластирів не буде відбуватися за лабораторним зразком, оскільки в промислових умовах забезпечується зовсім інша швидкість, умови та обладнання, тому пристосуємо все для наших об'ємів згідно з врахуванням матеріальних потоків (табл. 7.5.2).

1. Щоб оптимізувати і пришвидшити процес, 24%-й розчин пулулану будуть розчиняти у реакторі-змішувачі при температурі 40 °С протягом 1 години за 500 об/хв. Але розчин пулулану з інсуліном не може розчинятися таким способом, оскільки інсулін є термолабільним та не зможе витримати температуру більше 30 °С. Тому

цей розчин ми готуємо при кімнатній температурі протягом 3-х годин при 200 об/хв..

2. За 1 цикл маємо створити 516 735 пластира по  $8 \times 8 \text{ мм}^2$ , тобто форма має бути  $4 \times 134 \text{ м}^2$ , що є дуже великою для наших масштабів. Тому буде поступово заповнюватись 1 125 форм по  $9 \times 9 \text{ м}^2$ .

3. Оскільки, важко знайти обладнання, яке в промислових умовах зможе забезпечити дуже точне мінімальне дозування (41 мкм та 61 мкм) в окремі матриці, було прийнято рішення наповнювати одну велику матричну форму ( $9 \times 9 \text{ м}^2$ ) по 500 мл розчину. І в подальшому вирізати необхідні нам розміри ( $8 \times 8 \text{ мм}^2$ ).

4. В кожену форму по  $9 \times 9 \text{ м}^2$  вливаємо по 500 мл розчину пулулану з інсуліном:  $(200 \text{ л} \times 1125 \text{ форм}) / 516 735 \text{ пласт/цикл} = 0,45 \text{ л} \approx 500 \text{ мл}$ . Для третього шару вливаємо по 60 мл 24%-го розчину пулулану на форму:  $(31 \text{ л} \times 1125 \text{ форм}) / 516 735 \text{ пласт/цикл} = 0,06 \text{ л} = 60 \text{ мл}$ .

5. Автоматичні машини для наповнення мають бункери не більше 50 л. Нам же необхідно влити 200 л. Тому перекачуємо розчин пулулану з інсуліном з реактора відцентровим насосом в бункер 50 л по 4 заходи після кожного спорожнення бункера.

6. В лабораторних умовах використовується центрифуга, щоб рівномірно розподілити розчин та заповнити всі мікроголки. Але важко знайти центрифугу, яка забезпечить розміри, що вміщатимуть 1125 форм по  $9 \text{ м}^2$ . Тому вирішено використовувати вібраційний стіл на якому будуть заповнюватись форми та одразу піддаватися вібрації і переходити на наступні етапи. Також, в даному випадку не потрібно додаткових маніпуляцій загрузки й вигрузки. Відклеювання пластирів від форм також забезпечуватиме вібраційний стіл

Таблиця 7.5.2

## Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіям

| №<br>п/п                                      | Назва стадії<br>(операції)                   | Матеріальні<br>потoki на<br>стадії | Кількість по стадіям |                          |        | Необхідне<br>обладнання   |
|---|--|------------------------------------|----------------------|--------------------------|--------|---|
|   |  |                                    | Надійшло             | Втрати<br>(разом<br>10%) | Вийшло |   |
| 1   | 2  | 3                                  | 4                    | 5                        | 6      | 7   |
| <b>ДР 1 Приготування 24% розчину пулулану</b> |  |                                    |                      |                          |        |   |
| 1   | ДР 1 Виробництво<br>надчистої води           | Питна вода                         | 391 л                | 40%                      | 279 л  | Через лічильник<br>подається до<br>системи<br>електродеіонізації            |
|   |  | Надчиста<br>вода                   | 279                  | -                        | -      | Відцентровим<br>насосом подається<br>до збірника<br>об'ємом 300 л           |
| 2   | ДР 2 Приготування<br>24% розчину<br>пулулану | Пулулан                            | 85 кг                | -                        | -      | Шнековим<br>транспортером<br>подають у<br>реактор-змішувач<br>об'ємом 500 л |

|   |   |                     |        |   |        |   |
|---|---|---------------------|--------|---|--------|---|
|   |   | Надчиста вода       | 279 л  | - | -      | Відцентровим насосом із збірника об'ємом 300 л подають у реактор-змішувач об'ємом 500 л   |
|   |   | 24% розчин пулулану | -      | - | 310 л  | Більша частина самоплином подається до реактора з інсуліном, а менша - відцентровим насосом до автоматичної машини для наповнення |
| <b>ДР 2 Приготування розчину пулулану з інсуліном</b> |   |                     |        |   |        |   |
| 3   | ДР 3<br>Приготування розчину пулулану з інсуліном | ⊘ інсулін           | 1,5 кг | - | 1,5 кг | Похилим конвеєром переносять у реактор-змішувач об'ємом 500 л   |

|   |  |                             |       |    |       |   |
|---|--|-----------------------------|-------|----|-------|---|
|   |  | 0,01 М водний розчин HCl    | 171 л | -  | 171 л | Самоплином подають у реактор-змішувач об'ємом 500 л   |
|   |  | 24% розчин пулулану         | 279 л | -  | 279 л | Самоплином подають у у реактор-змішувач об'ємом 500 л |
|   |  | Розчин пулулану з інсуліном | 450 л | 4% | 468л  | Реактор-змішувач об'ємом 500 л                        |
| <b>ТП 1 Створення шарів трансдермального пластира на основі мікроглок</b> |  |                             |       |    |       |   |
| 4   | ТП 1.1 Створення перших двох лікувальних шарів | розчин пулулану з інсуліном | 450 л | 4% | 432 л | Автоматичною машиною для наповнення наносять на форми |
| 5   | ТП 1.2. Створення третього шару                | розчину пулулану            | 32 л  | 2% | 31 л  | Автоматичною машиною для наповнення наносять на форми |

| <b>ТП 2 Від'єднання трансдермальних пластирів на основі мікроголок від форм з матрицями</b> |   |  |   |   |            |  |
|---|---|--|---|---|------------|--|
| 6   | ТП 2.1. Вирізання форми трансдермальних пластирів                   | Готові трансдермальні пластира на основі мікроголок навантажені інсуліном  | - | - | 516 735 шт | Конвеєром відправляють на вібраційний стіл |
| 7   | ТП 2.2. Відклеювання трансдермальних пластирів від силіконових форм | Порізані трансдермальні пластиря на основі мікроголки навантажні інсуліном | - | - | 516 735 шт | Збирають у контейнер                       |

**РОЗДІЛ 8**  
**СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ**

Таблиця 8

**Специфікація обладнання ділянки виробництва трансдермальних пластирів  
на основі мікроголок навантажених інсуліном**

| Позиція | Найменування                    | Кількість | Технічна характеристика (виробник)   |
|---------|---------------------------------|-----------|--|
| СКП-1   | Система кондиціонування повітря | 1         | Система вентиляції та кондиціонування чистих приміщень (HVAC system) моделі PH, від виробника PHARMA, Китай . Діапазон повітряного потоку - 2000~50000 м3/год , контроль вологості – 5%-90%, вентилятор з ремінним приводом, атестація CE, ISO9001.[ <a href="https://pharma.en.made-in-china.com/product/NBIJZbauCkrP/China-Clean-HVAC-Systems-for-Food-Industry.html">https://pharma.en.made-in-china.com/product/NBIJZbauCkrP/China-Clean-HVAC-Systems-for-Food-Industry.html</a> ] |
| Ф-2     | Фільтр середньої очистки        | 1         | Промисловий кишеньковий повітряний фільтр.<br>Ультразвукова герметична кишенькова структура;<br>Ефективність: G3, G4. Великий обсяг пилу, висока ефективність і низький перепад тиску можуть ефективно видаляти дрібний пил і мікроорганізми.  |

|           |               |   |        |      |   |       |         |
|-----------|---------------|---|--------|------|---|-------|---------|
|           |               |   |        |      | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ                |       |         |
| Зм        | Арк.          | № | Підпис | Дата |   |       |         |
| Розробник | Стеценко А.В. |   |        |      | Літера                                  | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.    |   |        |      |   | 114   | 150     |
| Н. контр  |               |   |        |      | Кафедра БТМ                             |       |         |
| Консульт  |               |   |        |      |   |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П |   |        |      |   |       |         |
|           |               |   |        |      | РОЗДІЛ 8.<br>СПЕЦИФІКАЦІЯ<br>ОБЛАДНАННЯ |       |         |

|       |  |   |  |
|-------|--|---|--|
|       |  |   | <a href="https://comfortfilter.en.made-in-china.com/product/WNXQcJSMkOkV/China-Industry-Bag-Air-Filter-Medium-Efficiency-Pocket-Air-Filter.html">[https://comfortfilter.en.made-in-china.com/product/WNXQcJSMkOkV/China-Industry-Bag-Air-Filter-Medium-Efficiency-Pocket-Air-Filter.html]</a>  |
| ФВМ-3 | Фільтро-вентиляційний модуль для чистого приміщення типу А | 1 | Фільтро-вентиляційний модуль моделі U5DH1220600150, торгової марки SNYLI, Китай. Рівень фільтрації - Фільтр ULPA (U16) . Матеріал фільтра– ультра тонке скловолокно. Ефективність : 99,99995%, при 0,12 мкм та 99,999% при 0,3 мкм; Матеріал блоку: анодований алюміній. <a href="https://snylifilter.en.made-in-china.com/product/ldaAHYZkgzVE/China-Anodized-Aluminum-Extrusion-Box-Disposable-Ceiling-Modules-for-Cleanroom-Glass-Fiber-HEPA-Air-Filter-H13-H14.html">[https://snylifilter.en.made-in-china.com/product/ldaAHYZkgzVE/China-Anodized-Aluminum-Extrusion-Box-Disposable-Ceiling-Modules-for-Cleanroom-Glass-Fiber-HEPA-Air-Filter-H13-H14.html]</a> ] |
| ФВМ-4 | Фільтро-вентиляційний модуль для чистого приміщення типу В | 1 | Фільтро-вентиляційний модуль моделі U5DH1220600150, торгової марки SNYLI, Китай. Рівень фільтрації - Фільтр ULPA (U15) . Матеріал фільтра– ультра тонке скловолокно. Ефективність : 99,99995%, при 0,12 мкм та 99,999% при 0,3 мкм; Матеріал блоку: анодований   |

|     |  |   |  |
|-----|--|---|--|
|     |  |   | алюміній. [ <a href="https://snylifilter.en.made-in-china.com/product/ldaAHYZkgzVE/China-Anodized-Aluminum-Extrusion-Box-Disposable-Ceiling-Modules-for-Cleanroom-Glass-Fiber-HEPA-Air-Filter-H13-H14.html">https://snylifilter.en.made-in-china.com/product/ldaAHYZkgzVE/China-Anodized-Aluminum-Extrusion-Box-Disposable-Ceiling-Modules-for-Cleanroom-Glass-Fiber-HEPA-Air-Filter-H13-H14.html</a> ]  |
| Ф-5 | дифузора з вмонтованим фільтром HEPA для чистого приміщення типу С | 1 | Фільтр високої ефективності HEPA H13. Корпус- анодований алюмінієвий профіль, нержавіюча гальванізована сталь, Фільтруючий матеріал – водовідштовхувальне та вологостійке скловолокно. Герметик - поліуретан. Ущільнення - гума. <b>Бренд:</b> ВЕНТ-ФІЛЬТР, Україна. [ <a href="https://ventfilter.kiev.ua/goods/hepa-filtr-dlya-farmatsevticheskoy-promyshlennosti-i-medsiny/">https://ventfilter.kiev.ua/goods/hepa-filtr-dlya-farmatsevticheskoy-promyshlennosti-i-medsiny/</a> ]               |
| Л-6 | Лічильник питної води  | 1 | Інтелектуальний електромагнітний витратомір питної води з нержавіючої сталі 316L від торгової марки «Macsensor», Китай. Діапазон потоку: 0-9999 м3/год; Номінальний тиск: 1,6 МПа. [ <a href="https://macsensor.en.made-in-china.com/product/jXwJxTkAXdph/China-Food-Grade-Drinking-Water-Intelligent-Electromagnetic-2-Flow-Meter-Flow.html">https://macsensor.en.made-in-china.com/product/jXwJxTkAXdph/China-Food-Grade-Drinking-Water-Intelligent-Electromagnetic-2-Flow-Meter-Flow.html</a> ] |

|              |                            |   |  |
|--------------|----------------------------|---|--|
| СЕДІ - 7     | Система електродеіонізації | 1 | Система електродеіонізації з нержавіючої сталі KYEDI-500L/H. Від торгової марки Kaiyuan, Гуанчжоу, Китай<br>Швидкість потоку – 500 л/год.<br>Швидкість відновлення – 60%.<br>Якість вихідної води – 18,2 МОм.<br>[ <a href="https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/cyoQDrpxOLVH/China-500lph-Stainless-Steel-Electrodeionization-EDI-Ultrapure-Water-System.html">https://kaiyuan-water.en.made-in-china.com/product/cyoQDrpxOLVH/China-500lph-Stainless-Steel-Electrodeionization-EDI-Ultrapure-Water-System.html</a> ] |
| ШТ-11        | Шнековий транспортер       | 1 | Похилий автоматичний шнековий конвеєр з нержавіючої сталі SS316L, діаметр 100 мм, швидкість обертання 100 об/хв., бренду ZHONGCHENGYOU, Хенань, Китай.<br>[ <a href="https://www.alibaba.com/product-detail/Screw-Feed-Stainless-Steel-Screw-Conveyor_10000012579168.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.4.53af103055Zpuj&amp;s=p">https://www.alibaba.com/product-detail/Screw-Feed-Stainless-Steel-Screw-Conveyor_10000012579168.html?spm=a2700.galleryofferlist.p_offer.4.53af103055Zpuj&amp;s=p</a> ]                        |
| P-12<br>P-16 | Реактор змішувач           | 2 | Реактор-змішувач (гомогенізатор) об'ємом 500 л, об'ємом завантаження 350 л. Мас сорочку, виготовлений з нержавіючої сталі SS316L, швидкість змішування до 1450 об/хв. Гуандун, Китай   |

|                             |                                  |   |   |
|-----------------------------|----------------------------------|---|---|
|                             |                                  |   | <a href="https://www.alibaba.com/product-detail/500L-emulsifying-mixing-homogenizer-tank-with_62118840467.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.73db6b0fwQm6nh">[https://www.alibaba.com/product-detail/500L-emulsifying-mixing-homogenizer-tank-with_62118840467.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.73db6b0fwQm6nh]</a>   |
| Н-8<br>Н-10<br>Н-13<br>Н-17 | Насос<br>відцентровий            | 4 | Водяний насос низького тиску ISW/ISG 25-110 розроблений YONJOU, Китай. Матеріал: нержавіюча сталь, чавун, бронза. Максимальний тиск 16 бар, продуктивність: 4 м3/год, потужність 0,55 кВт.<br><a href="https://yonjoupump.en.made-in-china.com/product/hSwnBgidpqWZ/China-Xbd-Pipeline-Centrifugal-Pump.html">[https://yonjoupump.en.made-in-china.com/product/hSwnBgidpqWZ/China-Xbd-Pipeline-Centrifugal-Pump.html]</a> ] |
| 3-9                         | Збірник для<br>надчистої<br>води | 1 | Резервуар об'ємом 200 л з нержавіючої сталі SS316 від торгової марки LIENM, Китай. Розміри: 2,1x1,23x1,21, товщина корпусу - 4 мм. Має термометр, вимірювач та контролер рівня, санітарну вентиляційну витяжку, СІР-мийку, з'єднанні ніжки з колесами <a href="https://www.alibaba.com/">[https://www.alibaba.com/</a>  |

|      |                                       |   |   |
|------|---------------------------------------|---|---|
| К-14 | Конвеєр                               | 1 | <p>Стрічковий транспортер похилий . Швидкість регулюється. Ланцюг виготовлений з 304SS . Має Strong зірочки з працюючим двигуном та знижений рівень шуму.</p> <p>Повністю закрита система, операції з підтримання чистоти навколишнього середовища. 650*650 мм ящик для зберігання. Від Zonpack ,Чжецзян, Китай.<br/> <a href="https://zonpack.en.made-in-china.com/product/awUGSHeEsTtq/China-Zonpack-PU-Material-Belt-Inclined-Elevator-Conveyor-Used-for-Vegetable-Fruit-Lift-Feed.html">https://zonpack.en.made-in-china.com/product/awUGSHeEsTtq/China-Zonpack-PU-Material-Belt-Inclined-Elevator-Conveyor-Used-for-Vegetable-Fruit-Lift-Feed.html</a></p> |
| З-15 | Збірник для розчину хлоридної кислоти | 1 | <p>Реактор із скляним покриттям, механічно міцний та стійкий до корозії об'ємом 200 л. Потужність двигунів 1.1 кВт, вага 706 кг. Витримує від -20°C до +200°C і тиск до 6 бар. Бренд Jinzong Machinery, Гуандун, Китай.</p>   |

|                |                                   |   |  |
|----------------|-----------------------------------|---|--|
|                |                                   |   | <a href="https://jinzongmachinery.en.made-in-china.com/product/IXwxPdvbkSVm/China-Open-Type-Glass-Lined-Reactor-50-12500L.html">[https://jinzongmachinery.en.made-in-china.com/product/IXwxPdvbkSVm/China-Open-Type-Glass-Lined-Reactor-50-12500L.html ]</a>   |
| АМ-18<br>АМ-21 | Автоматична машина для наповнення | 2 | Автоматична машина для наповнення розчинами різної в'язкості. Розмір: 1330*500*450 мм, об'єм збірника – 50 м2, діапазон наповнення 5 л, швидкість наповнення форм – 1шт/хв. Матеріал: нержавіюча сталь. Від бренду DUOQI, Чжецзян, Китай<br><a href="https://www.alibaba.com/product-detail/Automatic-Cosmetic-Shea-Butter-Heating-Mixing_1600386412802.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.45ca840e3b1E6g">[https://www.alibaba.com/product-detail/Automatic-Cosmetic-Shea-Butter-Heating-Mixing_1600386412802.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.45ca840e3b1E6g ]</a> |

|                                |                     |   |  |
|--------------------------------|---------------------|---|--|
| BC-19<br>BC-22<br>BC-27        | Вібраційний<br>стіл | 3 | <p>Високочастотний вібраційний стіл ЗДП-3000. Розмір столу 9 м<sup>2</sup>, потужність – 1,5*6, амплітуда-2-5 мм, продуктивність – 120 м<sup>2</sup>/год, частота 50 Гц. Матеріал – вуглецева сталь. Торгова марка - YongQing , Хенань, Китай</p> <p><a href="https://yongqing-sieving.en.made-in-china.com/product/BvTnXoQOhIrR/China-High-Frequency-Vibrating-Table-for-Compacting-Macadam.html">[https://yongqing-sieving.en.made-in-china.com/product/BvTnXoQOhIrR/China-High-Frequency-Vibrating-Table-for-Compacting-Macadam.html]</a></p> |
| K-20<br>K-23<br>K -24<br>K -26 | Конвеєр             | 5 | <p>Лінійний стрічковий конвеєр SYBT. Ширина 1000 мм. Матеріал пояса – гума, матеріал корпусу – нержавіюча сталь . Китай. <a href="https://zsyong.en.made-in-china.com/product/BKZJFOaXyMYu/China-Material-Handling-Conveyor-PVC-PU-Stainless-Steel-Belt-Conveyor-for-Food-Processing-Industry.html">[https://zsyong.en.made-in-china.com/product/BKZJFOaXyMYu/China-Material-Handling-Conveyor-PVC-PU-Stainless-Steel-Belt-Conveyor-for-Food-Processing-Industry.html]</a> ]</p>   |

|       |                    |   |  |
|-------|--------------------|---|--|
| MP-25 | Машина для різання | 1 | <p>Машина для різання, що оснащена пневматичними ножами. Система водіння – серводвигуни та приводи Розміри 2,3*3,1*1,2М. Максимальна швидкість різання до 1,5 м/с.</p> <p>Бренд - Sanyin, Хебей, Китай</p> <p>[<a href="https://www.alibaba.com/product-detail/Cutting-Machine-Cnc-Oscillating-Knife-Cutting_1600933733849.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.6ef976d397KsfC">https://www.alibaba.com/product-detail/Cutting-Machine-Cnc-Oscillating-Knife-Cutting_1600933733849.html?spm=a2700.galleryofferlist.normal_offer.d_title.6ef976d397KsfC</a> ]</p> |
| КТ-28 | Контейнер          | 1 | <p>Контейнер для піддонів промислового використання з відкидними дверцятами</p> <p>Розміри: 1200X1000X975 мм, 800 л. Матеріал: 100% HDPE. Торгова марка – ENL Китай .</p> <p><a href="https://cnplasticpallet.en.made-in-china.com/product/jBKxTkbhEprZ/China-1200X1000X975mm-Industrial-Use-Pallet-Bulk-Container-with-Drop-Doors.html">https://cnplasticpallet.en.made-in-china.com/product/jBKxTkbhEprZ/China-1200X1000X975mm-Industrial-Use-Pallet-Bulk-Container-with-Drop-Doors.html</a></p>   |

## РОЗДІЛ 9

### ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИГОТОВЛЕННЯ ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ПЛАСТИРІВ НА ОСНОВІ МІКРОГОЛОК

#### 9.1. Допоміжні роботи

#### ДР 1 Очищення повітря

#### ДР 1.1. Забір та очищення повітря

Атмосферне повітря забирають за допомогою системи кондиціонування повітря – HVAC system (СКП-1), де воно підлягає очищенню за допомогою перед фільтра, першому підігріву, охолодженню, другому підігріву, зволоження апірогенною паром та подається по повітропроводу до фільтру (Ф-2) другого ступеня фільтрації .

#### ДР 1.1.1 Очищення повітря для класу чистоти А

Очищене повітря від фільтру(Ф-2)до приміщення класу чистоти А по повітропроводу передається, попередньо проходячи через фільтро-вентиляційний модуль (ФВМ-3), в який вбудований фільтр HEPA, що забезпечує ламінарний потік повітря, очищеного на 99,9%.

#### ДР 1.1.2 Очищення повітря для класу чистоти В

Очищене повітря від фільтру (Ф-2) до приміщення класу чистоти В передається по повітропроводу до фільтро-вентиляційного модулю (ФВМ-4), оснащеного фільтром HEPA , що забезпечує ламінарний потік повітря, очищеного на 99,9%.

#### ДР 1.1.3 Очищення повітря для класу чистоти С

Очищене повітря від фільтру (Ф-2) до приміщення класу чистоти С передається по повітропроводу до дифузора з вмонтованим фільтром HEPA (Ф-5), що забезпечує турбулентну вентиляцію, очищеним повітрям на .

#### ДР 2 Підготовка води

#### ДР 2.1. Очищення питної води до надчистої

| Зм        | Арк.          | № | Підпис | Дата | НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ   |             |       |         |
|-----------|---------------|---|--------|------|--|-------------|-------|---------|
| Розробник | Стеценко А.В. |   |        |      | РОЗДІЛ 9. ОПИС<br>ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ<br>ВИГОТОВЛЕННЯ<br>ТРАНСДЕРМАЛЬНИХ ПЛАСТИРІВ<br>НА ОСНОВІ МІКРОГОЛОК | Літера      | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.    |   |        |      |  |             | 123   | 150     |
| Н. контр  |               |   |        |      |  | 123         |       |         |
| Консульт  |               |   |        |      |  | Кафедра БТМ |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П |   |        |      |  |             |       |         |

391 л питної води подають через лічильник (Л-6) подається до системи електродеіонізації (СЕДІ-7), де вона очищається протягом 47 хв до надчистої. Далі 279 л надчистої води подається відцентровим насосом (Н-8) до збірника (З-9).

### **ДР 3 Приготування розчинів пулулану**

#### **ДР 3.1 Приготування 24% розчину пулулану**

85 кг пулулану шнековим транспортером (ШТ-11) подають у реактор (Р-12) об'ємом 500 л, відцентровим насосом (Н-10) із збірника (З-9) об'ємом 300 л подають 279 л надчистої води і постійно перемішують 500 об/хв при температурі 40 °С протягом години для отримання концентрації 24%. Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу А.

#### **ДР 3.2 Приготування розчину пулулану з інсуліном**

Таким чином, на технічних вагах зважують 1,5 кг інсуліну, конвеєром (К-14) переносять у реактор-змішувач (Р-16) об'ємом 500 л, туди самоплином зі збірника (З-15) об'ємом 200 л подається 171 л 0,01 М водного розчину HCl, та відцентровим насосом (Н-13) подають з реактора (Р-12) об'ємом 300 л 279 л 24% -го розчину пулулану та змішують протягом трьох годин зі швидкістю 200 об/хв. Далі порційно по 50 л відцентровим насосом (Н-17) доставляємо до збірника автоматичної машини для наповнення форм (АМ-18). Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу А.

## **9.2. Стадії технологічного процесу**

### **ТП 4 Створення шарів трансдемального пластира на основі мікроглобок**

#### **ТП 4.1 Створення перших двох лікувальних шарів**

За допомогою автоматичної машини для наповнення (АМ-18) розливаємо 200 л розчину пулулану з інсуліном дозовано по 500 мл на форму розміром 9 м<sup>2</sup> з силіконовими матрицями (висота голки 550 мкм, основа голки 200 мкм, крок голки 500 мкм), що лежить на вібраційному столі (ВС-19). Струшуємо на вібраційному столі (В-19) розчин пулулану з інсуліном протягом 5 хв при 50 Гц. Через 5 хв автоматична машина (АМ-18) знов заповняє ту ж форму по 500 мл розчину пулулану з інсуліном, та струшуємо на вібраційному столі (ВС-19) протягом 5 хв за

50 Гц. Форми конвеєром (К-20) переносяться до наступного вібраційного стола (ВС-22). %. Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу А

#### **ТП 4.2 Створення третього шару**

За допомогою автоматичної машини (АМ-21) для наповнення дозують 31 л 24%-го розчину пулулану по 60 мл на форму по 9 м<sup>2</sup> на вже заправлені лікувальним розчином форми, що знаходяться на вібраційному столі (ВС-22). Струшуємо протягом 5 хв при 50 Гц. Конвеєром (К-23) переносять форми у приміщення з кліматичним контролем, де вони стоять протягом ночі при 30 °С. %. Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу А.

#### **ТП 5 Створення повноцінного пластиру необхідної форми**

##### **ТП 5.1. Вирізання форми трансдермальних пластирів**

Конвеєром (К-24) подають висушені форми до машини для різання (МР - 25), де нарізаються пластирі по розмір 8×8 мм<sup>2</sup>. Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу С

##### **ТП 5.2. Відклеювання трансдермальних пластирів від силіконових форм**

Далі конвеєром (К-26) подають на вібраційний стіл (ВС-27) на 20 хв при 100 Гц для відклеєння пластирів від форм. Їх збирають в контейнер (КТ-28) та доставляють на етапи фасування. Всі маніпуляції проводяться у приміщенні класу чистоти типу С.

**РОЗДІЛ 10**  
**ОПИС ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ЗГІДНО АНД**  
**Специфікація**

*Таблиця 10*

**ІНОПЛАСТ**

| <b>Найменування показників контролю</b> | <b>Встановлені значення</b>  | <b>Методи контролю</b>                          |
|---|--|---|
| <b>Опис</b>                             | Пластир напівпрозорий світло-жовтого кольору у формі квадрата : розмір 8×8 мм <sup>2</sup> , масиви 15×15, висота голки 550 мкм, основа голки 200 мкм, крок голки 500 мкм. | За п. 1 АНД, візуально, за допомогою мікрометра |
| <b>Розчинність</b>                      | При додаванні води із розрахунку 500 мл на 1 пластир протягом 5 хвилин він почне набухати і утвориться напівпрозора рідина світло-жовтого кольору                          | За п.2 АНД, візуально                           |
| <b>Специфічна нешкідливість</b>         | Препарат має бути не шкідливим   | За п.3 АНД                                      |

|           |                |   |        |      |   |  |  |                        |       |         |
|-----------|----------------|---|--------|------|---|--|--|------------------------|-------|---------|
|           |                |   |        |      | <b>НУХТ БТЕК 02.02.01 КР ПЗ</b>                     |  |  |                        |       |         |
| Зм        | Арк.           | № | Підпис | Дата | РОЗДІЛ 10. ОПИС<br>ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ<br>ЗГІДНО АНД |  |  |                        |       |         |
| Розробник | Степенко А.В.  |   |        |      |   |  |  | Літера                 | Аркуш | Аркушів |
| Керівник  | Пирог Т.П.     |   |        |      |   |  |  |                        | 126   | 150     |
| Н. контр  |                |   |        |      |   |  |  | <b>Кафедра БТМ 126</b> |       |         |
| Консульт  |                |   |        |      |   |  |  |                        |       |         |
| Зав. каф. | Стабніков В.П. |   |        |      |   |  |  |                        |       |         |

|                                |   |   |
|--------------------------------|---|---|
| <b>Мікробіологічна чистота</b> | Загальне число аеробних мікроорганізмів – до $10^2$<br>Загальне число дріждевих плісневих грибів – до $10^1$<br>Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> на 1 пластир<br>Відсутність <i>Pseudomonas</i> | За п.4 АНД, ДФУ 1.4. р. 5.1.4. ст.. 171 |
| <b>Герметичність</b>           | Первинна упаковка (Блістери) мають бути надійно запакованими, без доступу повітря   | За п. 5АНД                              |

## Методи контролю

### Інсопласт

#### 1. Опис

Пластир напівпрозорий світло-жовтого кольору у формі квадрата : розмір  $8 \times 8$  мм<sup>2</sup>, масиви  $15 \times 15$ , висота голки 550 мкм, основа голки 200 мкм, крок голки 500 мкм.

Визначають візуально визначають колір, розмір виміряють мікрометром.

#### 2. Розчинність (Згідно умов ДФУ 2.9.4. с. 145)

##### Метод із використанням циліндра, що обертається

**Обладнання.** Використовують прилад, що складається із посудини зі скла або іншого інертного прозорого матеріалу, що може закриватися; мотора; ведучого вала та лопаті. Замінюють лопать і вертикальний вал циліндричним розміщуючим елементом із нержавіючої сталі (див. Рис. 10).

Пластир поміщають на циліндр спочатку кожного випробування. Відстань між внутрішнім краєм посудини і циліндра в ході випробування підтримується на рівні  $(25\pm 2)$  мм. Підтримують температуру середовища  $(32\pm 0.5)$  °С. Посудина може бути закрита для зменшення випаровування. 500 мл середовища розчинення (ацетатний буферний розчин рН 4.5) поміщають у посудину та доводять температуру середовища до  $(37\pm 0.5)$  °С. Видаляють захисну стрічку із пластиру, поміщають пластир клейкою стороною на шматок підхожої інертної пористої мембрани, сторони якої більші всіх сторін пластиру не менше ніж на 1 см, і поміщають мембраною на чисту поверхню.

Можуть бути використані два способи приклеювання до циліндра:  
— наносять підхожий клей на вільні краї мембрани і, якщо необхідно, на зворотний бік пластиру;  
— наносять на зовнішню стінку циліндра двосторонню клейку стрічку.

Злегка натискуючи, обережно прикріплюють пластир на циліндр нелипкою частиною так, щоб поверхня вивільнення пластиру вступала у взаємодію із середовищем розчинення і пластир за горизонтальною віссю щільно облягав навколо циліндра.

Попередньо клей або смужку досліджують на відсутність впливу на кількісне визначення або адсорбцію діючої речовини (речовин).

Циліндр поміщають у пристрій і негайно обертають зі швидкістю, наприклад, 100 об/хв. Через певний інтервал часу відбирають пробу з ділянки посередині між поверхнею середовища розчинення і верхньою частиною лопаті на відстані не ближче 1 см від стінки посудини.

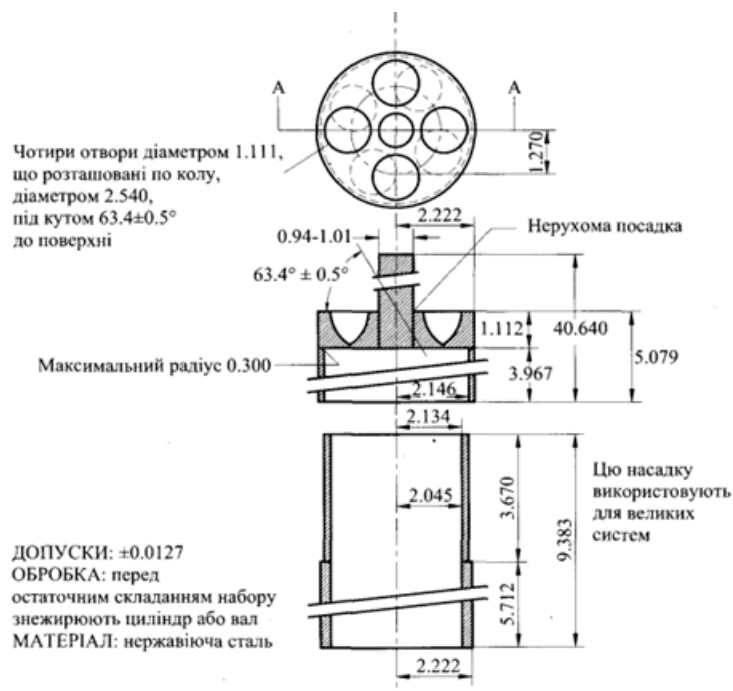


Рис.10. Елемент циліндра, що обертається

Випробування вважається виконаним, якщо кількість діючої речовини (речовин), що вивільнилася із пластиру, у перерахунку на одиницю площі поверхні вивільнення й одиницю часу за певних умов випробування знаходиться у зазначених межах.

### 3. Специфічна нешкідливість

Препарат має бути нешкідливим для білих мишей для введенні його перорального в кількості однієї дози.

Випробування проводять на 5-ти безпородних мишах різної статі масою 14–16 г.

### 4. Мікробіологічна чистота

Десять пластирів звільняють від захисного покриття за допомогою стерильного пінцета й поміщають у стерильні пластмасові або скляні лотки клейкою поверхнею догори. Якщо необхідно, клейку поверхню покривають стерильною марлею (або сіткою з полімерного моноволокна типу тканинного фільтра) і переносять десять пластирів у посудину, що містить не менше 500 мл буферного розчину з натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 і підходжі інактиватори, наприклад, полісорбат-80 і/або лецитин. Енергійно струшують не менше 30 хв (зразок А). Іншу групу з десяти пластирів готують, як описано вище, поміщають у посудину, що містить не менше

500 мл рідкого живильного середовища D, і енергійно струшують не менше 30 хв (зразок В) (Згідно ДФУ 2.6.12., ст. 38, 39.).

#### Метод глибинного висівання

У кожену чашку Петрі діаметром 9 см вносять 1 мл випробовуваного зразка, і від 15 мл до 20 мл розплавленого густого живильного середовища для вирощування бактерій (середовище В) або від 15 мл до 20 мл розплавленого густого живильного середовища для вирощування грибів (середовище С). Температура живильного середовища має становити не більше 45 °С. При використанні чашок Петрі більшого діаметра відповідно збільшують кількість живильного середовища. Для кожного розведення використовують не менше двох чашок Петрі з кожним живильним середовищем. Посіви інкубують при температурі від 30 °С до 35 °С (від 20 °С до 25 °С для грибів) протягом п'яти діб, якщо вірогідні результати випробування не будуть одержані за коротший час. Відбирають чашки, відповідні одному розведенню, для якого кількість колоній на одній чашці Петрі не перевищує 300 (100 колоній для грибів). Обчислюють середнє арифметичне значення числа колоній і визначають число колонієутворюючих одиниць у грамі або мілілітрі.

#### *Pseudomonas aeruginosa* (ДФУ 2.6.13 с. 43)

10 мл випробовуваного зразка, вносять у 100 мл рідкого живильного середовища А, гомогенізують й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 48 год. Роблять пересівання на чашку з густим живильним середовищем N й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 72 год. Лікарський засіб витримує випробування, якщо ріст мікроорганізмів на живильному середовищі не виявляється. Якщо виявлений ріст грамнегативних паличок, роблять пересівання різних за морфологічними ознаками ізолюваних колоній на рідке живильне середовище А й інкубують при температурі від 41 °С до 43 °С від 18 год до 24 год. Лікарський засіб витримує випробування, якщо при температурі від 41 °С до 43 °С не спостерігається ріст мікроорганізмів. При випробуванні трансдермальних пластирів 50 мл зразка А пропускають крізь стерильний мембранний фільтр, як описано у статті 2.6.12, поміщають мембранний фільтр у 100 мл рідкого живильного середовища А й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 48 год.

Після закінчення періоду інкубації роблять пересівання на поверхню густого живильного середовища N.

### *Staphylococcus aureus*

10 мл випробовуваного зразка або його кількість, що відповідає 1 г або 1 мл лікарського засобу, вносять у 100 мл рідкого живильного середовища А, гомогенізують й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 48 год. Роблять пересівання на чашку з густим живильним середовищем О й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 72 год. Ріст чорних колоній грампозитивних коків, оточених прозорою зоною, указує на наявність *S. aureus*, що може бути підтверджено відповідними біохімічними тестами, наприклад, тестами на коагулазу і дезоксирибонуклеазу. Лікарський засіб витримує випробування, якщо на густому живильному середовищі О не виявлений ріст описаних вище колоній або додаткові біохімічні тести дали негативний результат. При випробуванні трансдермальних пластирів 50 мл зразка А пропускають крізь стерильний мембранний фільтр, поміщають мембранний фільтр у 100 мл рідкого живильного середовища А й інкубують при температурі від 35 °С до 37 °С від 18 год до 48 год. Після закінчення періоду інкубації роблять пересівання на поверхню густого живильного середовища О.

### **Рідке живильне середовище А (соєво-казеїновий бульйон)**

Панкреатичний гідролізат казеїну 17.0 г

Папаїновий гідролізат соєвих бобів 3.0 г

Натрію хлорид 5.0 г

Дикалію гідрофосфат 2.5 г

Глюкози моногідрат 2.5 г

Вода очищена 1 000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $7.3 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі 121 °С протягом 15 хв.

### **Густе живильне середовище В (соєво-казеїновий агар)**

Панкреатичний гідролізат казеїну 15.0 г

Папаїновий гідролізат соєвих бобів 5.0 г

Натрію хлорид 5.0 г

Агар 15.0 г

Вода очищена 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $7.3 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121\text{ }^\circ\text{C}$  протягом 15 хв.

#### **Густе живильне середовище С (агар Сабуро із глюкозою й антибіотиками)**

Пептони (м'ясний або казеїновий) 10.0 г

Глюкози моногідрат 40.0 г

Агар 15.0 г

Вода очищена 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $5.6 + 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121\text{ }^\circ\text{C}$  протягом 15 хв. Безпосередньо перед викристанням до живильного середовища додають стерильні розчини антибіотиків з розрахунку 0.10 г бензилпеніциліну натрію і 0.10 г тетрацикліну на літр середовища або перед стерилізацією додають хлорамфенікол із розрахунку 50 мг на літр живильного середовища.

#### **Рідке живильне середовище D (лактозний бульйон)**

Яловичний екстракт 3.0 мл

Панкреатичний гідролізат желатину 5.0 мл

Лактози моногідрат 5.0 мл

Вода очищена 1000 мл

Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $6.9 + 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121\text{ }^\circ\text{C}$  протягом 15 хв і охолоджують негайно після стерилізації.

#### **Густе живильне середовище N (цетримідний агар)**

Панкреатичний гідролізат желатину 20.0 г

Магнію хлорид 1.4 г

Калію сульфат 10.0 г

Цетримід 0.3 г

Агар 13.6 г

Вода очищена 1000 мл

Гліцерин 10.0 мл

Нагрівають до кипіння і кип'ятять протягом 1 хв при струшуванні. Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $7.2 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв.

### **Густе живильне середовище О (агар Байєрд-Паркера)**

Панкреатичний гідролізат казеїну 10.0 г

Яловичний екстракт 5.0 г

Дріжджовий екстракт 1.0 г

Літію хлорид 5.0 г

Агар 20.0 г

Гліцин 12.0 г

Натрію піруват 10.0 г

Вода очищена 950 мл.

Нагрівають до кипіння і кип'ятять протягом 1 хв при струшуванні. Установлюють рН середовища таким чином, щоб після стерилізації його значення становило  $6.8 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв. Охолоджують до температури від  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  і додають 10 мл стерильного розчину 10 г/л калію телуриту і 50 мл емульсії яєчного жовтка.

### **5. Герметичність.**

Після досягнення в камері установки для перевірки блістерів на герметичність атмосферного тиску здійснюється контроль блістерів на герметичність.

Робоча камера установки автоматично вакуумується упродовж 5 хвилин і заповнюється контрольною рідиною до необхідного рівня, що контролюються датчиком рівня. Величина розрідження не більше 0,05 МПа. Після заповнення камери установки контрольною рідиною автоматично вимикається барботаж

контрольної рідини подачею в камеру стиснутого повітря тиском 0,03–0,04 МПа впродовж 3–5 хвилин.

Відбраковують розірвані чи відшаровані блістери і направляють на знищення.

### **Пакування**

Пакується по 10 трансдермальних пластирів на основі мікроголок навантажених інсуліном на 1 блістер, який складається з фольги Protect™ 470 і створений таким чином, що можна верхню фольгу, яка закриває комірки, відшаровувати задля не пошкодження пластирів. Далі 1,2 або 3 блістери вкладаються у картонну коробку, що містить листок-вкладиш. Така коробка має механізм, у формі пунктирних насічок, для легшого разового відкриття.

### **Маркування**

На блістері українською мовою вказують: виробника, товарний знак, назву препарату латинською, українською мовами, дозування, номер серії, термін придатності.

На картонній упаковці та етикетці групової тари українською мовою нанесено: «Україна», виробник, товарний знак та адресу, назву препарату латинською, українською мовами, лікарську форму, дозування, кількість таблеток в упаковці, «Для застосування трандермально», умови зберігання, «Зберігати у недоступному для дітей місці», номер серії, реєстраційний номер, термін придатності, штрих-код, реєстраційний номер в країні імпортерів (за необхідності). Номер серії та термін придатності допускається наносити на боковій стороні пачки методом тиснення. На етикетці групової тари додатково вказують кількість упаковок. Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192–96. Примітка. При поставці товару на експорт допускається текст маркування зазначати мовою, оговореною в контракті.

### **Транспортування.**

Транспортування в закритих транспортних засобах всіма видами критого транспорту при температурі до 25°C.

Зберігання. У сухому, захищеному від світла місці при температурі до 25 °C.

### **Фармакологічні властивості.**

**Код АТС.** А10А А10АВ. Ліки для лікування діабету. Інсуліни та їх аналоги для введення.

**Біологічні властивості.** Трансдермальний пластир на основі мікроголок виготовлений з природного полісахариду – пулулану, продуцентом якого є гриб – *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1. Пулулан проявляє хоршу розчинність, механічну міцність, біосумісність та безпечну біодеградацію.

**Фармакодинаміка.** Цукрознижувальний ефект препарату полягає в сприянні поглинанню глюкози тканинами після зв'язування інсуліну з рецепторами м'язових і жирових клітин, а також в одночасному пригніченні виділення глюкози з печінки. Такий препарат діє протягом 24 годин. Мікроголочки, що складаються з пулулану потрапляють в кров'яне русло, оминаючи нервові закінчення, що містяться в епідермісі.

**Фармакокінетика.** За добу даний пластир розчиняється повністю, потрапляючи в організм людини. Пулулан виводиться нирками. Біодоступність такого пластиру становить 80%. Максимальна концентрація інсуліну в організмі людини настає через 6-8 годин.

#### **Показання до застосування.**

Інсулінозалежний цукровий діабет.

#### **Спосіб застосування та дози.**

Перед постановкою пластиру місце постановки (передпліччя, плече, стегно, живіт) необхідно продезінфікувати, зачекати 1 хв, щоб місце висохло, вийняти із блістерної комірки один пластир та за допомогою вказівного пальця прикласти пластир до продезінфікованої ділянки шкіри і обережно прижати. Якщо пластир не відпадає, то він зафіксований. Місце постановки пластира не терти задля запобігання відклеєння пластиру. На добу використовується 1-2 пластира. Дозу лікар підбирає індивідуально.

#### **Побічна дія.**

- Можливі алергічні реакції : кропивниця, набряк квінке, анафілактичний шок.
- Тимчасові набряки
- Гіпоглікемія спостерігається в разі передозування препаратом

## **Протипоказання**

Підвищена чутливість до інсуліну або пулулану.

## **Особливості застосуванн**

Обовязковий контроль глюкози в крові один раз на добу під час постановки пластира

### *Вагітність*

Дозволено використовувати вагітним жінкам,

### *Період годування груддю*

Не має даних на рахунок потрапляння інсуліну в молоко. Але відомо, що у травному тракті дитини інсулін як пептид перетравлюється до амінокислот.

*Здатність впливати на швидкість реакції при керуванні автотранспортом або іншими механізмами.*

Не показано водіям через можливий розвиток гіпоглікемії.

### *Фертильність*

Дослідження на тваринах не виявили шкідливого впливу на здатність до запліднення.

## **Умови зберігання**

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С. Не заморожувати. Захищати від дії світла. Зберігати у недоступному для дітей місці. Не застосовувати після закінчення терміну придатності.

## **Термін придатності**

3 роки.

## **Умови відпуску**

За рецептом.

## **Пакування**

По 10 пластирів у блістері; по 1, 2, 3 блістерів у картонній упаковці.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Александрова, К. В., Шкода, О. С., Макоїд, О. Б., Сінченко, Д., Левіч, С. В., & Васильєв, Д. А. (2016). Біологічна хімія. Змістовий модуль 1. Вступ до біохімії. Прості та складні білки. Ферменти, 129.

Бичков, Я. М., & Дмитрюк, Т. І. (2014). Способи отримання сухих порошків з рослинної сировини. *Наукові праці ОНАХТ*, 1(46).

Бухкало, С. І., Ольховська, О. І., Зіпунніков, М. М., Ольховська, В. О., & Сирку, М. А. (2019). Аналіз можливостей регенерації етилового спирту у виробництві пектину. *НТУ "ХПІ"*, 21, 19-30

Власенко, І.О., Давтян Л. Л. (2021). Фармацевтичне забезпечення препаратами інсуліну в Україні за 2016-2021 рр. . *Фармацевтичний часопис*, (2), 55-64. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.2.12176>

Власенко, І. О., Давтян, Л. Л., & Гладишев, В. В. (2023). Сучасні стратегії альтернативних систем доставки інсуліну. *Запорізький медичний журнал*, 25(3), 262-269.

Готюр, О., & Влашин, Х. (2019). Кожен пацієнт має право на максимально якісні та безболісні медичні процедури. *Art of Medicine*, 3 (№ 1 (9), 48 -51. <https://doi.org/10.21802/artm.2019.1.9.48>

Державна Фармакопея України (2011). Київ. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів».

Карлаш, Ю. В. (2013). Основи проектування біотехнологічних виробництв [Електронний ресурс]: конспект лекцій для студентів напряму "Біотехнологія" у денній та заочній формі навчання. Київ НУХТ.

Карлаш, Ю.В., & Омельчук, Є.О. (2019). Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для здобувачів освітнього ступеня "бакалавр" спеціальності 162 "Біотехнології та біоінженерія" освітньо-професійної програми "Біотехнологія", денна та заочна форми навчання. Київ НУХТ.

Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. - Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) / М. Ляпунов, О. Безугла, Ю. Підпружников та ін. - Київ, МОЗ України, 2011. – 42 с

Пенчук, Ю.М. (2019). Конспект лекцій для здобувачів освітнього рівня "Бакалавр" спеціальності 162 "Біотехнології та біоінженерія" освітньо-професійної програми "Біотехнологія" у денній та заочній формі навчання. Київ: Національний університет харчових технологій, Кафедра біотехнології і мікробіології, 80.

Перекупко, Т. В., & Корчинська, Х. М. (2014). Дослідження процесу екстрагування хлоридів з виробничого шеніту з одержанням безхлоридного калійно-магнієвого добрива. *Вісник Національного університету Львівська політехніка. Хімія, технологія речовин та їх застосування*, (787), 90-94.

Сирова, Г. О., Андрєєва, С. В., Макаров, В. О., Петюніна, В. М., Грабовецька, Є. Р., Шаповал, Л. Г., ... , Чаленко, Н. М. (2014). Одержання, очистка та властивості колоїдних розчинів. Коагуляція колоїдних розчинів. *ХНМУ*, 30.

Чадченко, Д. А., & Двінських, Н. В. (2022). Методи виділення екзометаболітів пробіотичних мікроорганізмів. *Youth pharmacy science*.

Ямнюк, О. К. (2018). Сучасні види упаковки готових лікарських засобів. In *Наукові розробки молоді на сучасному етапі*. Київський національний університет технологій та дизайну.

Abdel-Hafez, S. M., Hathout, R. M., Sammour, O. A. (2018). Tracking the transdermal penetration pathways of optimized curcumin-loaded chitosan nanoparticles via confocal laser scanning microscopy. *Int. J. Biol. Macromol.*, 108, 753–764. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.170>

Abnoos, M., Mohseni, M., Mousavi, S. A. J., Ashtari, K., Ilka, R., Mehravi, B. (2018). Chitosan-alginate nano-carrier for transdermal delivery of pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. *Int. J. Biol. Macromol.*, 118(Pt A), 1319–1325. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.147>

Abreu, V. G., Correa, G. M., Silva, T. M., Fontoura, H. S., Cara, D. C., Piló-Veloso, D., Alcântara, A. F. (2013). Anti-inflammatory effects in muscle injury by transdermal application of gel with Lychnophorapinaster aerial parts using phonophoresis in rats. *BMC*

*Complement Altern Med.*, 13, 270. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-270>

Acharjee, S., Ghosh, B., Al-Dhubiab, B. E., Nair, A. B. (2013). Understanding type 1 diabetes: etiology and models. *Can. J. Diabetes*, 37(4), 269–276.

<https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.05.001>

Agrawal, S., Budhwani, D., Gurjar, P., Telange, D., Lambole, V. (2022). Pullulan based derivatives: synthesis, enhanced physicochemical properties, and applications. *Drug delivery*, 29(1), 3328–3339. <https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2144544>

Ahmed Saeed Al-Japairai, K., Mahmood, S., HamedAlmurisi, S., Reddy Venugopal, J., RebhiHilles, A., Azmana, M., Raman, S. (2020). Current trends in polymer microneedle for transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 587, 119673.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119673>

Akil, A. A., Yassin, E., Al-Maraghi, A., Aliyev, E., Al-Malki, K., Fakhro, K. A. (2021). Diagnosis and treatment of type 1 diabetes at the dawn of the personalized medicine era. *J. Transl. Med*, 19(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-02778-6>

Al Hanbali, O., Khan, H., Sarfraz, M., Arafat, M., Ijaz, S., Hameed, A. (2019). Transdermal patches: Design and current approaches to painless drug delivery. *Acta Pharm.*, 69(2) 197-215. <https://doi.org/10.2478/acph-2019-0016>

Alam, M. I., Alam, N., Singh, V., Alam, M. S., Ali, M. S., Anwer, T., Safhi, M. M. (2013). Type, preparation and evaluation of transdermal patch: A review. *World J Pharm Pharm Sci.*, 2(4), 2199-2233.

Arshad, M. S., Fatima, S., Nazari, K., Ali, R., Farhan, M., Muhammad, S. A., Abbas, ..., Ahmad, Z. (2020). Engineering and characterisation of BCG-loaded polymeric microneedles. *J Drug Target*, 28(5), 525–532.

<https://doi.org/10.1080/1061186X.2019.1693577>

Badhwar, P., Kumar, P., & Dubey, K. K. (2019). Extractive Fermentation for Process integration and amplified pullulan production by *A. pullulans* in Aqueous Two Phase Systems. *Scientific reports*, 9(1), 1-8.

Barcelos, M. C. S., Vespermann, K. A. C., Pelissari, F. M., Molina, G. (2020). Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 60(9), 1475–1495.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575791>

Bektaş, A., Cevher, E., Güngör, S., Ozsoy, Y. (2014). Design and evaluation of polysaccharide-based transdermal films for the controlled delivery of nifedipine. *Chem. Pharm. Bull.*, 62(2), 144–152. <https://doi.org/10.1248/cpb.c13-00579>

Berkó, S., Szűcs, K. F., Balázs, B., Csányi, E., Varju, G., Sztojkov-Ivanov, A., ..., Gáspár, R. (2016). Electroporation-delivered transdermal neostigmine in rats: equivalent action to intravenous administration. *Drug Des Devel Ther.*, 10, 1695–1701. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S102959>

Castilla-Casadiago, D. A., Carlton, H., Gonzalez-Nino, D., Miranda-Muñoz, K. A., Daneshpour, R., Huitink, D., Prinz, G., Powell, J., Greenlee, L., & Almodovar, J. (2021). Design, characterization, and modeling of a chitosan microneedle patch for transdermal delivery of meloxicam as a pain management strategy for use in cattle. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 118, 111544. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111544>

Cázares-Delgadillo, J., Ganem-Rondero, A., Merino, V., Kalia, Y. N. (2016). Controlled transdermal iontophoresis for poly-pharmacotherapy: Simultaneous delivery of granisetron, metoclopramide and dexamethasone sodium phosphate in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 85, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.01.027>

Chen, G., Wang, J., Su, Y., Zhu, Y., Zhang, G., Zhao, H., ..., Xian, M. (2017). Pullulan production from synthetic medium by a new mutant of *Aureobasidium pullulans*. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 47(10), 963–969. <https://doi.org/10.1080/10826068.2017.1350979>

Chen, X., Zhu, L., Li, R., Pang, L., Zhu, S., Ma, J., ..., Jin, Y. (2020). Electroporation-enhanced transdermal drug delivery: Effects of logP, pK<sub>a</sub>, solubility and penetration time. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 151, 105410. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105410>

Chatterjee, S., Hui, P. C. L., Wat, E., Kan, C. W., Leung, P. C., & Wang, W. (2020). Drug delivery system of dual-responsive PF127 hydrogel with polysaccharide-based nano-conjugate for textile-based transdermal therapy. *Carbohydrate polymers*, 236, 116074.

Cherepanskyi, V., & Hrehirchak, N. (2019). preservation viability of the cells as

guaranty of quality of probiotic preparation. *Наукoвi працi НУХТ*, 25 (6), 7-13.

GMP Insiders. (2022). GMP Cleanroom Classifications. GMP Insiders. <https://gmpinsiders.com/gmp-cleanroom-classifications/>

Curcio, M., Diaz-Gomez, L., Cirillo, G., Concheiro, A., Iemma, F., Alvarez-Lorenzo, C. (2017). pH/redox dual-sensitive dextran nanogels for enhanced intracellular drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm*, 117, 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.05.002>

Dai, X., Gao, G., Wu, M., Wei, W., Qu, J., Li, G., Ma, T. (2019). Construction and application of a *Xanthomonas campestris* CGMCC15155 strain that produces white xanthan gum. *MicrobiologyOpen*, 8(2), e00631. <https://doi.org/10.1002/mbo3.631>

Danjo, T., Enomoto, Y., Shimada, H., Nobukawa, S., Yamaguchi, M., & Iwata, T. (2017). Zero birefringence films of pullulan ester derivatives. *Scientific reports*, 7(1), 1-8.

Economidou, S. N., Lamprou, D. A., & Douroumis, D. (2018). 3D printing applications for transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 544(2), 415–424. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.031>

Fonseca, D. F. S., Costa, P. C., Almeida, I. F., Dias-Pereira, P., Correia-Sá, I., Bastos, V., Oliveira, H., Duarte-Araújo, M., Morato, M., Vilela, C., Silvestre, A. J. D., & Freire, C. S. R. (2020). Pullulan microneedle patches for the efficient transdermal administration of insulin envisioning diabetes treatment. *Carbohydrate polymers*, 241, 116314. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116314>

Fonseca, D. F. S., Vilela, C., Silvestre, A. J. D., Freire, C. S. R. (2019). A compendium of current developments on polysaccharide and protein-based microneedles. *Int. J. Biol. Macromol.*, 136, 704–728. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.163>

Gholami, S., Zarkesh, I., Ghanian, M. H., Hajizadeh-Saffar, E., Hassan-Aghaei, F., Mohebi, M. M., & Baharvand, H. (2021). Dynamically capped hierarchically porous microneedles enable post-fabrication loading and self-regulated transdermal delivery of insulin. *Chemical Engineering Journal*, 421, 127823.

Gularte, M. S., Quadrado, R. F., Pedra, N. S., Soares, M. S., Bona, N. P., Spanevello, R. M., & Fajardo, A. R. (2020). Preparation, characterization and antitumor activity of a

cationic starch-derivative membrane embedded with a  $\beta$ -cyclodextrin/curcumin inclusion complex. *International journal of biological macromolecules*, 148, 140-152..

Ibitoye, E. B., Lokman, I. H., Hezmee, M. N. M., Goh, Y. M., Zuki, A. B. Z., Jimoh, A. A. (2018). Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan isolated from house cricket. *Biomed Mater.*, 13(2), 025009. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa9dde>.

Idf.org. [Електронний ресурс]. Доступно за адресою : <https://diabetesatlas.org/data/en/country/207/ua.html>

Ita K. (2015). Transdermal Delivery of Drugs with Microneedles-Potential and Challenges. *Pharmaceutics*, 7(3),90–105. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics7030090>

Ita K. (2016). Perspectives on Transdermal Electroporation. *Pharmaceutics*, 8(1),9.<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics8010009>

Jenkins K. (2014). II. Needle phobia: a psychological perspective. *British journal of anaesthesia*, 113(1), 4–6. <https://doi.org/10.1093/bja/aeu013>

Karges, B., Schwandt, A., Heidtmann, B., Kordonouri, O., Binder, E., Schierloh, U., ..., Holl, R. W. (2017). Association of Insulin Pump Therapy vs Insulin Injection Therapy With Severe Hypoglycemia, Ketoacidosis, and Glycemic Control Among Children, Adolescents, and Young Adults With Type 1 Diabetes. *JAMA*, 318(14), 1358–1366. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.13994>

Khajouei, R. A., Keramat, J., Hamdami, N., Ursu, A. V., Delattre, C., Laroche, C., ..., Michaud, P. (2018). Extraction and characterization of an alginate from the Iranian brown seaweed *Nizimuddinia zanardini*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 118(Pt A), 1073–1081. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.154>

Kravchenko M. V., Voloshkina, O. S., & Vasylenko, L. O. (2021). Застосування методу зворотного осмосу для доочистки питної води. *Екологічна безпека та природокористування*, 40(4), 32–45. <https://doi.org/10.32347/2411-4049.2021.4.32-45>

Zhang, Y., Jiang, G., Yu, W., Liu, D., & Xu, B. (2018). Microneedles fabricated from alginate and maltose for transdermal delivery of insulin on diabetic rats. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 85, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.12.006>

Liu, H., Shan, X., Yu, J., Li, X., & Hu, L. (2020). Recent advances in inhaled formulations and pulmonary insulin delivery systems. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 21(3), 180-193.

Liu, F., Zhang, J., Zhang, L., Diao, M., Ling, P., Wang, F. (2021). Correlation between the synthesis of pullulan and melanin in *Aureobasidium pullulans*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 177, 252-260.

Li, B., Huang, G., Ma, Z., Qin, S. (2020). Ultrasound-assisted transdermal delivery of alendronate for the treatment of osteoporosis. *Acta Biochim. Pol.*, 67(2), 173–179. [https://doi.org/10.18388/abp.2020\\_5162](https://doi.org/10.18388/abp.2020_5162)

Li, J., Xiang, H., Zhang, Q., Miao, X. (2022). Polysaccharide-Based Transdermal Drug Delivery. *Pharmaceuticals*, 15(5), 602. <https://doi.org/10.3390/ph15050602>

Li, J., Zeng, M., Shan, H., Tong, C. (2017). Microneedle Patches as Drug and Vaccine Delivery Platform. *Curr. Med. Chem.*, 24(22), 2413–2422. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170526124053>

Li, Z., Fang, X., & Yu, D. (2021). Transdermal Drug Delivery Systems and Their Use in Obesity Treatment. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12754. <https://doi.org/10.3390/ijms222312754>

Ma, J., Wang, Y., Lu, R. (2022). Mechanism and Application of Chitosan and Its Derivatives in Promoting Permeation in Transdermal Drug Delivery Systems: A Review. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 15(4), 459. <https://doi.org/10.3390/ph15040459>

McAlister, E., Kearney, M. C., Martin, E. L., & Donnelly, R. F. (2021). From the laboratory to the end-user: a primary packaging study for microneedle patches containing amoxicillin sodium. *Drug Deliv. Transl. Res.*, 11(5), 2169–2185. <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00883-5>

Mishra, B., & Suneetha, V. (2014). Biosynthesis and hyper production of pullulan by a newly isolated strain of *Aspergillus japonicus*-VIT-SB1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 2045-2052

Mishra, P., Malik, J. K., Parihar, S. S., Tiwari, S., Rai, P. (2023). An Overview on Transdermal Patches Along With Its Availability in Market. *Int. res. j. pharm.* 2(1), 1.-7.

Morla S. (2019). Glycosaminoglycans and Glycosaminoglycan Mimetics in Cancer and Inflammation. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(8), 1963. <https://doi.org/10.3390/ijms20081963>

Nagadev, C., Rao, M., Venkatesh, P., Hepcykalarani, D., Prema, R. (2020). A review on transdermal drug delivery systems. *Asian j. res. pharm. sci*, 10(2), 109-114.

Nagesh, V. S., Kalra, S. (2015). Type 1 diabetes: Syndromes in resource-challenged settings *JPMA. J. Pak. Med.*, 65(6), 681–685.

Najahi-Missaoui, W., Arnold, R. D., & Cummings, B. S. (2020). Safe nanoparticles: Are we there yet?. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 385.

Nikolenko, M. V., Vashkevich, E. Y., Kalashnikov, Y. V., & Solovov, V. A. (2016). The salting-out of molibdoferats (II) from aqueous solutions by the organic solvents. *Bulletin of Dnipropetrovsk University. Series Chemistry*, 24(2), 111-118.

Nornberg, A. B., Martins, C. C., Cervi, V. F., Sari, M. H. M., Cruz, L., Luchese, C., ..., Fajardo, A. R. (2022). Transdermal release of methotrexate by cationic starch/poly(vinyl alcohol)-based films as an approach for rheumatoid arthritis treatment. *Int. J. Pharm.*, 611, 121285. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121285>

Ogle, G.D., Wang, F., Gregory, G.F., Maniam., J.(2022). Type 1 diabetes numbers in children and adults. IDF Atlas Reports. 14. <https://diabetesatlas.org/atlas/t1d-index-2022/>

Öner, E. T. (2013). Microbial production of extracellular polysaccharides from biomass. *Pretreatment techniques for biofuels and biorefineries*, 35-56.

Osińska-Jaroszuk, M., Jarosz-Wilkołazka, A., Jaroszuk-Ściseł, J., Szaląpata, K., Nowak, A., Jaszek, M., ..., Majewska, M. (2015). Extracellular polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: production conditions, biochemical characteristics, and biological properties. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 31(12), 1823–1844. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1937-8>

Pan, N. C., Pereira, H. C. B., da Silva, M. L. C., Vasconcelos, A. F. D., Celligoi, M. A. P. C. (2017). Improvement Production of Hyaluronic Acid by *Streptococcus zooepidemicus* in Sugarcane Molasses. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 182(1), 276–293. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2326-y>

Pan, L., Wang, Q., Qu, L., Liang, L., Han, Y., Wang, X., Zhou, Z. (2022). Pilot-scale production of exopolysaccharide from *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 and its application in set yogurt. *J. Dairy Sci.*, *105*(2), 1072–1083. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20997>

Pan, Y., Xia, Q., & Xiao, H. (2019). Cationic polymers with tailored structures for rendering polysaccharide-based materials antimicrobial: An overview. *Polymers*, *11*(8), 1283.

Pastore, M. N., Kalia, Y. N., Horstmann, M., Roberts, M. S. (2015). Transdermal patches: history, development and pharmacology. *Br J Pharmacol*, *172*(9), 2179–2209. <https://doi.org/10.1111/bph.13059>

Pavšelj, N., Zorec, B., Miklavčič, D., & Becker, S. (2015). Experimental Factors to Be Considered in Electroporation-Mediated Transdermal Diffusion Experiments. *Journal of biomechanical engineering*, *137*(12), 124501. <https://doi.org/10.1115/1.4031767>

Ponnusami, V., & Gunasekar, V. (2015). Production of pullulan by microbial fermentation. In *Polysaccharides* (pp. 581-596). Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-319-16298-0\_58

Rabiei, M., Kashanian, S., Samavati, S. S., Jamasb, S., & McInnes, S. J. P. (2020). Nanomaterial and advanced technologies in transdermal drug delivery. *Journal of drug targeting*, *28*(4), 356–367. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2019.1693579>

Radwan-Pragłowska, J., Janus, Ł., Piątkowski, M., Sierakowska, A., Szajna, E., Matýsek, D., Bogdał, D. (2021). Development of Stimuli-Responsive Chitosan/ZnO NPs Transdermal Systems for Controlled Cannabidiol Delivery. *Polymers*, *13*(2), 211. <https://doi.org/10.3390/polym13020211>

Schmid, J., Sieber, V., Rehm, B. (2015). Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. *Frontiers in microbiol.*, *6*, 496. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00496>

Seah, B. C., Teo, B. M. (2018). Recent advances in ultrasound-based transdermal drug delivery. *Int J Nanomedicine*, *13*, 7749–7763. <https://doi.org/10.2147/IJN.S174759>

Serrano-Castañeda, P., Escobar-Chavez, J. J., Rodriguez-cruz, I. M., Melgoza, L. M., Martinez-Hernandez, J. (2018). Microneedles as Enhancer of Drug Absorption Through

the Skin and Applications in Medicine and Cosmetology. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 21, 73–93. <https://doi.org/10.18433/jpps29610>

Sheng, L., Tang, G., Su, P., Zhang, J., Xiao, Q., Tong, Q., & Ma, M. (2016). Understanding the influence of Tween 80 on pullulan fermentation by *Aureobasidium pullulans* CGMCC1234. *Carbohydrate polymers*, 136, 1332-1337.

Singh, R. S., Kaur, N., Singh, D., Bajaj, B. K., Kennedy, J. F. (2022). Downstream processing and structural confirmation of pullulan - A comprehensive review. *Int. J. Biol. Macromol*, 208, 553–564. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.163>

Singh, R. S., & Saini, G. K. (2012). Biosynthesis of pullulan and its applications in food and pharmaceutical industry. *Microorganisms in sustainable agriculture and biotechnology*, 509-553

Sinsuwanrak, S., Premanoch, P., Manakasettharn, S., & Adulyarittikul, P. (2023). Environmental Microbial Monitoring and Risk Assessment of Cleanrooms-A Case Study in Medical Device Pilot Plant. *Thai Environ. Eng. J.* , 37(1), 1-12.

Subathra Devi, C., Reddy, S., & Mohanasrinivasan, V. (2014). Fermentative production of dextran using *Leuconostoc* spp. isolated from fermented food products. *Frontiers in biology*, 9, 244-253.

Sugumaran, K. R., Jothi, P., Ponnusami, V. (2014). Bioconversion of industrial solid waste--cassava bagasse for pullulan production in solid state fermentation. *Carbohydrate polymers*, 99, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.039>.

Su, T., Zhao, W., Wu, L., Dong, W., Qi, X. (2020). Facile fabrication of functional hydrogels consisting of pullulan and polydopamine fibers for drug delivery. *Int. J. Biol. Macromol.*, 163, 366-374. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.283>

Sun, Y., Ma, X., Hu, H. (2021). Marine Polysaccharides as a Versatile Biomass for the Construction of Nano Drug Delivery Systems. *Mar. Drugs*, 19(6), 345. <https://doi.org/10.3390/md19060345>

Tabletki. ua. [Електронний ресурс]. Доступно за адресою : <https://tabletki.ua/uk/>

Tabernerero, A., Cardea, S. (2020). Microbial Exopolysaccharides as Drug Carriers. *Polymers*, 12(9), 2142. <https://doi.org/10.3390/polym12092142>

Tanwar, N. S. (2020). Synthesis of Pullulan. In *Pullulan* . Jenny Stanford Publishing,

59-70.

Terán Hilares, R., Resende, J., Orsi, C. A., Ahmed, M. A., Lacerda, T. M., da Silva, S. S., Santos, J. C. (2019). Exopolysaccharide (pullulan) production from sugarcane bagasse hydrolysate aiming to favor the development of biorefineries. *Int. J. Biol. Macromol.*, 127, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.038>.

Tian, Y., Lee, J., van der Maaden, K., Bhide, Y., de Vries-Idema, J. J., Akkerman, R., O'Mahony, C., ..., Beukema, M. (2022). Intradermal Administration of Influenza Vaccine with Trehalose and Pullulan-Based Dissolving Microneedle Arrays. *J. Pharm. Sci.*, 111(4), 1070–1080. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2022.01.033>

Torres, C. A., Ferreira, A. R., Freitas, F., Reis, M. A., Coelho, I., Sousa, I., & Alves, V. D. (2015). Rheological studies of the fucose-rich exopolysaccharide FucoPol. *Int. J. Biol. Macromol.*, 79, 611-617.

Tran, T. T., & Tran, P. H. (2019). Controlled release film forming systems in drug delivery: the potential for efficient drug delivery. *Pharmaceutics*, 11(6), 290.

Vora, L. K., Courtenay, A. J., Tekko, I. A., Larrañeta, E., & Donnelly, R. F. (2020). Pullulan-based dissolving microneedle arrays for enhanced transdermal delivery of small and large biomolecules. *International journal of biological macromolecules*, 146, 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.184>

Wang, B., Han, Y., Lin, Q., Liu, H., Shen, C., Nan, K., Chen, H. (2016). In vitro and in vivo evaluation of xanthan gum–succinic anhydride hydrogels for the ionic strength-sensitive release of antibacterial agents. *J Mater Chem B*, 4(10), 1853-1861

Wang, C., Fan, Q., Zhang, X., Lu, X., Xu, Y., Zhu, W., ..., Hao, L. (2018). Isolation, Characterization, and Pharmaceutical Applications of an Exopolysaccharide from *Aerococcus Uriaeequi*. *Marine drugs*, 16(9), 337. <https://doi.org/10.3390/md16090337>

Wang, J., Yuan, P., Zhang, W., Liu, C., Chen, K., ..., Shao, T. (2022). Separation, Purification, Structural Characterization, and Anticancer Activity of a Novel Exopolysaccharide from *Mucor* sp. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(7), 2071. <https://doi.org/10.3390/molecules27072071>

Wang, W., Xue, C., Mao, X. (2020). Radioprotective effects and mechanisms of

animal, plant and microbial polysaccharides. *Int. J. Biol. Macromol.*, 153, 373-384.

Wang, Y., Zeng, L., Song, W., Liu, J. (2022). Influencing factors and drug application of iontophoresis in transdermal drug delivery: an overview of recent progress. *Drug Deliv. Transl. Res*, 12(1), 15–26. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00898-6>

Wong T. W. (2014). Electrical, magnetic, photomechanical and cavitation waves to overcome skin barrier for transdermal drug delivery. *J Control Release*, 193, 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.045>

Wu, S., Lu, M., Chen, J., Fang, Y., Wu, L., Xu, Y., Wang, S. (2016). Production of pullulan from raw potato starch hydrolysates by a new strain of *Auerobasidium pullulans*. *Int. J. Biol. Macromol*, 82, 740-743.

Wu, S., Jin, Z., Kim, J. M., Tong, Q., & Chen, H. (2009). Downstream processing of pullulan from fermentation broth. *Carbohydrate polymers*, 77(4), 750-753. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.02.023>

Xu, J., Yue, R. Q., Liu, J., Ho, H. M., Yi, T., Chen, H. B., Han, Q. B. (2014). Structural diversity requires individual optimization of ethanol concentration in polysaccharide precipitation *Int. J. Biol. Macromol.*, 67, 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.036>

Yang, G., Zhang, Y., Gu, Z. (2018). Punching and Electroporation for Enhanced Transdermal Drug Delivery. *Theranostics*, 8(13), 3688–3690. <https://doi.org/10.7150/thno.27236>

Yuan, M., Niu, J., Xiao, Q., Ya, H., Zhang, Y., Fan, Y., ..., Li, X. (2022). Hyaluronan-modified transfersomes based hydrogel for enhanced transdermal delivery of indomethacin. *Drug Deliv.*, 29(1), 1232–1242. <https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2053761>

Zhang, H., Cheng, J., Ao, Q. (2021). Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. *Mar. Drugs.*, 19(5), 264. <https://doi.org/10.3390/md19050264>

Zhang, Y., Jiang, G., Yu, W., Liu, D., Xu, B. (2018). Microneedles fabricated from alginate and maltose for transdermal delivery of insulin on diabetic

rats. *Mater. Sci. Eng. C.*, 85, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.12.006>

Стеценко А., Пирог Т. Синтез мутантним штамом *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 пулулану для трансдермальної доставки ліків // матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 3-7 квітня 2023 р.) – С. 423.

89 International scientific conference of young scientist and students  
"Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution",  
April, 3–7, 2023. Book of abstract. Part I. NUFT, Kyiv.

#### 40. Синтез мутантним штамом *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 пулулану для трансдермальної доставки ліків

Анастасія Стеценко<sup>1</sup>, Тетяна Пирог<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> – Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

<sup>2</sup> – Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, Київ, Україна

**Вступ.** Полісахариди є чудовим матеріалом для виробництва трансдермальних систем доставки ліків через їхні механічні властивості, біосумісність, біодоступність, проникаючу та набухаючу здатність. Перспективним в цьому напрямку є пулулан [2]. **Матеріали і методи.** Культивування продуцента пулулану здійснювали у рідкому середовищі наступного складу (г/л) [1]: пептон – 20, дріжджовий екстракт – 10, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 5, NaCl – 1, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,6, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,6. Як джерело вуглецю використовували глюкозу (кінцева концентрація 740 г/л). У середовище на 96 год додатково вносили Tween-80. Періодичне культивування *Aureobasidium pullulans* UVMU6-1 здійснювали у 5 л ферментері протягом 114 год при 30 °С, рН 4, швидкість перемішування 180 об/хв.

**Результати.** Враховуючи високу собівартість пулулану, дослідники запропонували дешевше поживне середовище та оптимізували умови культивування продуцента, що дало змогу підвищити концентрацію цього екзополісахариду. Крім того, було здійснено УФ-індукований мутагенез вихідного штаму *Aureobasidium pullulans* CGMCC3.933 і одержано штам *A. pullulans* UVMU6-1, який продукує низькомолекулярний пулулан.

При дослідженні впливу природи джерела вуглецю (глюкоза, фруктоза, мальтоза, сахароза) на показники синтезу пулулану, було показано, що у разі використання як субстрату глюкози концентрація полісахариду була найвищою і становила 19,8 г/л. Внесення різних концентрацій Mg<sup>2+</sup> у середовище культивування *A. pullulans* UVMU6-1 не спричинило жодного впливу на синтез біомаси і пулулану.

Встановлено, що додавання поверхнево-активного Tween-80 (4 г/л) у процесі культивування *A. pullulans* UVMU6-1 супроводжувалося пригніченням росту продуцента і підвищенням кількості синтезованого екзополісахариду. Зниження початкової концентрації глюкози у середовищі до 40 г/л з наступним дробним внесенням субстрату до кінцевої концентрації 740 г/л, вирощування продуцента при швидкості перемішування 180 об/хв, температурі 30 °С дало змогу збільшити концентрацію синтезованого пулулану до 125 г/л на 114 год культивування.

**Висновки.** Вдосконалення продуцента методом індукованого мутагенезу, оптимізація складу поживного середовища, реалізація дробного внесення субстрату супроводжувалося суттєвим підвищенням ефективності технології одержання пулулану, що, в свою чергу, робить цей полісахарид перспективним для використання у медицині з метою трансдермальної доставки ліків.

#### Література

1. Chen, G., Wang, J., Su, Y., Zhu, Y., Zhang, G., Zhao, H., ... & Xian, M. (2017), Pullulan production from synthetic medium by a new mutant of *Aureobasidium pullulans*. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 47(10), 963-969.
2. Fonseca, D. F. S., Costa, P. C., Almeida, I. F., Dias-Pereira, P., Correia-Sá, I., Bastos, V., Oliveira, H., Duarte-Araújo, M., Morato, M., Vilela, C., Silvestre, A. J. D., & Freire, C. S. R. (2020), Pullulan microneedle patches for the efficient transdermal administration of insulin envisioning diabetes treatment. *Carbohydrate polymers*, 241, 116314. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116314>