

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «УДОСКОНАЛЕННЯ ВИРОБНИЦТВА ЛАФЕРОБІОНУ,
КРАПЕЛЬ НАЗАЛЬНИХ 100 000 МО/МЛ»**

Виконав : здобувач вищої освіти 4 курсу, гр. БТ620(3,10д)-01
спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія

Дарина БАБІНЦЕВА

Керівник: Доцент закладу вищої освіти кафедри біотехнології,
к.фарм.н, с.н.с. Наталія ДВІНСЬКИХ

Рецензент: Доцент закладу вищої освіти кафедри технологій
фармацевтичних препаратів, к.фарм.н, доцент Ірина САЙКО

Харків – 2024 рік

АНОТАЦІЯ

У кваліфікаційній роботі, яка присвячена вдосконаленню виробничого процесу лікарського препарату «Лаферобіон» (назальні краплі 100000 МО/мл), пропонується на етапі підготовки розчину замінити застарілий реактор на сучасний, що має вдвічі більший об'єм. Це дозволить збільшити обсяг виробництва, підвищити рівень автоматизації, зменшити втрати робочого часу та покращити якість проміжного продукту. Робота складається з вступу, чотирьох розділів, графічних матеріалів, висновків, списку літератури з 32 джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 79 сторінок, містить 7 рисунків, 19 таблиць та 2 креслення формату А1.

Ключові слова: Лаферобіон, інтерферон альфа 2-в, реактор, біосинтез, назальний спрей.

ANNOTATION

In the qualification work devoted to the improvement of the production of the medicinal product "Laferobion" (nasal drops 100,000 IU/ml), it is proposed to replace the outdated reactor with a modern one, which has twice the volume, at the stage of preparation of the solution. This will increase the volume of production, increase the level of automation, reduce the loss of working time and improve the quality of the intermediate product. The qualification work consists of an introduction, ten chapters, graphical materials, a conclusion, a list of used literature from 32 items and appendices. The total volume of work is 80 pages, 7 figures, 19 tables, 2 A1 format drawings.

Key words: Laferobion, interferon alpha 2-b, reactor, biosynthesis, nasal spray.

ЗМІСТ

Вступ.....	3
1 Аналітичний огляд.....	7
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	22
2.1 Характеристика готового продукту.....	22
2.2 Характеристика сировини, матеріалів, напівпродуктів	24
2.3 Характеристика біологічного(их) об'єкту.....	28
2.4 Біосинтез цільового продукту.....	29
3 Технологічна частина.....	37
3.1 Розрахунок матеріального балансу.....	37
3.2 Розрахунок і вибір технологічного обладнання (із кресленням основного апарату).....	41
3.3 Опис технологічного процесу.....	47
3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання).....	53
3.5 Критичні параметри виробництва.....	59
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	63
4 Економічна частина.....	65
Висновок.....	75
Список використаної літератури.....	76
Додатки.....	80

					162.01.01.00 000 ПЗ			
Змн..	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив	Бабінцева Д.Д.				Удосконалення виробництва Лаферобіону, крапель назальних 100 000 МО/мл Пояснювальна записка		Літ.	Арк.
Перевірив	Двінських Н.В.							2
Н. контр.							НФаУ Кафедра біотехнології	
Затвердив	Хохленкова Н.В.							
							Аркушів	90

ВСТУП

Актуальність теми. Інтерферон альфа 2-b – білковий імуномодулятор, протівірусний та протипухлинний препарат. Володіє пірогенними властивостями, як і всі інтерферони. Інтерферони виробляються клітинами тіла для боротьби з інфекціями та пухлинами, проте інтерферон альфа-2b є біосинтетичним.

Інтерферон альфа-2b є одним з найбільш поширених протівірусних засобів у світі завдяки його високій антимікробній ефективності, доступності та невисокій ціні.

Інтерферон альфа-2b пригнічує активність багатьох вірусів, його використовують як окремо, так і в комбінації з іншими протівірусними препаратами для емпіричної та остаточної терапії при різних захворюваннях. Це один з перших інтерферонів, впроваджених для рутинного клінічного застосування як препарат першої лінії, але у 1990-х роках його частково замінили більш сучасні протівірусні засоби, такі як пегільовані інтерферони та інгібітори протеаз, які вважалися менш токсичними та/або забезпечували більш широку протівірусну активність.

Проте зростання стійкості до нових класів протівірусних препаратів, разом із глибшим розумінням механізмів дії інтерферонів, знову викликало інтерес до інтерферону альфа-2b для боротьби з резистентними вірусами. Дослідники оцінюють ефективність лікування вірусних інфекцій, стійких до багатьох ліків (XDR-вірусів), за допомогою комбінацій добре відомих протівірусних препаратів, серед яких і інтерферон альфа-2b. Вони аналізують недоліки цих препаратів, оптимальні схеми дозування та можливості комбінування нових протівірусних засобів з уже відомими, розповсюдженими та відносно дешевими препаратами, такими як інтерферон альфа-2b. Таким чином, інтерферон альфа-2b має перспективи на «друге» життя як компонент комбінованої протівірусної терапії.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		3

У зв'язку з цим, вдосконалення виробництва лікарського засобу для назального застосування на основі інтерферону альфа-2b шляхом впровадження нового сучасного реактора збільшеного об'єму в апаратурне забезпечення є актуальним.

Мета роботи полягає в удосконаленні виробництва назальних крапель «Лаферобіон» у флаконах шляхом оновлення апаратурного забезпечення на стадії приготування розчину, а саме заміни ректору на новий, сучасної конструкції, удвічі більшої ємності, для збільшення обсягу готової продукції, підвищити технічний рівень процесу, скоротити втрати робочого часу та забезпечити отримання напівпродукту вищої якості.

Завдання для досягнення мети були визначені такі:

- проаналізувати ринок імуномодуючих засобів, зокрема групи інтерферону альфа-2b;
- здійснити огляд застосування інтерферонів як лікувальних засобів, визначити основні шляхи їхнього впливу на клітини та імунну відповідь, зокрема властивості інтерферонів альфа-2b;
- встановити, які мікроорганізми використовують для отримання рекомбінантних інтерферонів, їх характеристики і умови культивування;
- дослідити особливості технологічного процесу отримання інтерферону альфа-2b біосинтетичним способом;
- проаналізувати склад крапель назальних з інтерфероном альфа-2b як діючої речовини, основні його фізико-хімічні та біологічні характеристики, склад, призначення та властивості допоміжних речовин, показники якості готового препарату.
- скласти схеми виробництва за технологічним процесом та апаратурним оформленням;
- проаналізувати наявне на виробничій дільниці технологічне обладнання та провести технологічні розрахунки;
- розглянути ринкові пропозиції ємкісного обладнання для фармацевтичної промисловості, яке можна запропонувати для збільшення

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						4
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

продуктивності розглянутого технологічного процесу;

- обґрунтувати доцільність удосконалення техніко-економічними розрахунками проекту.

Об'єктом роботи є «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці.

Предметом роботи є розгляд технології отримання інтерферону альфа-2b біосинтетичним способом, опис виробничого процесу отримання назального лікарського засобу на основі рекомбінантного інтерферону та удосконалення виробництва назальної лікарської форми у вигляді крапель шляхом оновлення апаратурного забезпечення стадії приготування розчину.

Методи, застосовані в дослідженні: аналіз, порівняння, скринінг даних, графічне викладення схем.

Практичне значення отриманих результатів. Оцінка досліджень противірусної дії інтерферону альфа-2b показала, що цей препарат є одним з найбільш призначуваних противірусних засобів у світі завдяки його високій антимікробній ефективності, широкій доступності та низькій вартості. Тому раціоналізація виробництва препаратів на основі інтерферону є доцільною. Пропоноване вдосконалення апаратурного забезпечення ділянки виготовлення назальних крапель дозволяє збільшити обсяг виробництва цього важливого лікарського засобу, забезпечуючи отримання високоякісного противірусного препарату. Таким чином, оновлення дасть змогу випускати більш якісний продукт, підвищить продуктивність та прибутковість виробництва, а також забезпечить потреби охорони здоров'я в ефективній терапії вірусних захворювань.

За темою роботи опубліковано тези:

Бабінцева Д.Д. Характеристика методів одержання інтерферонів / Бабінцева Д.Д., наук. кер.: Двінських Н.В // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: мат. XXX міжнар. наук.-практ. конф. молодих

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		5

вчених та студентів (17-19 квітня 2024 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2024. – С. 160-161.

Результати роботи оприлюднено в доповіді «Характеристика методів одержання інтерферонів» на секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри біотехнології НФаУ в межах XXX міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (17-19 квітня 2024 р., м. Харків). Доповідь відзначено дипломом III ступеня.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		6

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Характеристика й основні галузі застосування інтерферонів.

До інтерферонів відносять білкові молекули з невеликою молекулярною масою, в середньому 20-70 кДа.

Ці білки відіграють роль при потраплянні антигену, в основному вірусних часток, до організму. Клітини починають виробляти інтерферон при потраплянні вірусів, та запускають захисні механізми в організмі, які пригнічують або зупиняють процеси розмноження інфекційного агенту.

Унікальність інтерферону полягає в тому, що він активний проти більшості ДНК та РНК, що містяться у вірусі, але безпосередньо на нуклеїнові кислоти вірусного геному вони не діють.

Характерною особливістю роботи інтерферонів є також здатність систем організму пригнічувати розмноження вірусних організмів навіть після виходу інтерферонів з клітин.

На утворення інтерферонів не впливає наявність антитіл проти вірусів.
[1, 2]

На ринку фармацевтичних засобів в Україні представлений широкий асортимент ліків проти гострої респіраторної вірусної інфекції. Серед них є препарати, основним активним компонентом яких є інтерферон альфа-2b. Важливою є можливість поглинання інтерферонів через носову порожнину. Через оболонки І пари черепно-мозкових нервів інтерферони проникають у мозок, де вони виконують як імунні, так і регуляторні функції. В порівнянні з іншими методами введення, інтраназальне застосування препарату забезпечує найкращу ефективність за мінімальну кількість небажаних реакцій. [3-5]

За структурою класифікують інтерферони на такі типи:

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- I тип – інтерферон-альфа, інтерферон-бета, інтерферон-омега, інтерферон-капа, інтерферон-епсилон, інтерферон-тау та інтерферон-дельта;
- II тип – інтерферон-гамма.

Інтерферони I типу мають схожі нуклеотидні та амінокислотні послідовності. Відома структура близько 20 тваринних інтерферонів- α , які мають послідовність нуклеотидів, гомологічну майже на 80 %. Гени їхні спостерігаються зазвичай на одній ділянці хромосомного апарату. У людей це дев'яти хромосома.

Інтерферон- β за структурою є глікопротеїном та не має відмінностей у тварин та людини.

Інтерферон- ω виявлено у деяких видів тварин та у людини. Розшифровано структуру 6 його різновидів, але біологічну активність знайдено тільки у одному.

Інтерферон- τ зустрічається у овець та ВРХ (корів) в клітинах епітелію на певних фазах розвитку ембріону.

Інтерферони- γ структурно значно відрізняються від інтерферонів I типу, їхні послідовності амінокислот не гомологічні з I типом, вони є глікопротеїнами. Особливістю структури є наявність інтронів.

Об'єднує все сімейство інтерферонів їхня імуномодуюча противірусна активність. Ці білки є індукцибельними, тобто неінфіковані клітини або зовсім їх не продукують, або виробляють в майже непомітних кількостях, які можна визначити тільки за наявністю інтерферонної іРНК за використання високочутливих сучасних методів аналізу. А активний синтез інтерферонів починається з появою вірусів, які відіграють роль індукторів інтерфероноутворення. [1, 2, 6]

Механізм дії інтерферонів пов'язаний з процесами міжклітинних взаємодій, зі здатністю зв'язуватися на поверхневі рецептори клітинних мембран. Власні інтерферони синтезуються в клітині, секретуються у міжклітинний простір і взаємодіють з рецепторами інших клітин,

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		8

розташованими на їхніх мембранах. Результатом цих взаємодій є початок ряду процесів передачі сигналів до генного апарату клітини, де активізуються ділянки генів, відповідальні за синтез інтерферонів.

Експресія цих генів призводить до утворення великої кількості сигнальних білків інтерферонів, які знов секретуються клітинами та зв'язуються з рецепторами інших клітин, і процес відтворюється у масштабі. Інтерферони I типу взаємодіють з одним видом рецепторів, інтерферони II типу – з іншими рецепторами.

Біологічна дія інтерферонів складається з регулювання виробленням ряду біологічно активних речовин - цитокінів, які разносять далі сигнали активації імунної системи. Багатоплановий вплив інтерферонів індукує певні ферменти, сприяє пригніченню проліферації певних клітин, модулює активність макрофагів, цитотоксичність імунних клітин-лімфоцитів тощо. [1, 6, 7]

1.2 Застосування препаратів інтерферону для терапії гострих респіраторних вірусних інфекцій

Гострі респіраторні захворювання (ГРЗ) за розповсюдженням займають одне з повідних місць серед загальної захворюваності як дорослих, так і дітей. Кількість звернень по лікарську допомогу в Україні, за офіційною статистикою, сягає щорічно до 5 млн. випадків. А при порівнянні захворюваності для дорослих та дітей, кількість випадків звернень з приводу дитячих ГРЗ майже в 3 рази перевищує цей показник для дорослих.

Це викликає занепокоєння у лікарів, тому що у дітей ГРЗ повторюються частіше, протікають довше, та можуть приводити до побічних негативних наслідків. [2, 3, 5]

В наукових публікаціях десятиріччями обговорюється та досліджується проблема лікування ГРЗ і дорослих, і дітей, яка пов'язана не тільки з симптоматикою, а й з більш глибоким розумінням процесів імунної відповіді. Частина фахівців вважає, що ГРЗ є клінічним проявом вторинного

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		9

імунодефіциту, частина вважає, що ГРЗ пов'язаний не з імунодефіцитом, а з особливостями розвитку та формування імунної системи організму.

Довготривалий практичний досвід у вітчизняній дитячій медицині дає підставу фахівцям-педіатрам визначати цілий ряд недоліків лікування ГРЗ, які пов'язані не тільки з непрофесіоналізмом лікарів, а й з розповсюдженням самолікування. Це й призначення зайвих препаратів як з боку недобросовісних лікарів, та і з боку недостатньо освічених батьків. Це несе фінансові витрати, але й, що важливіше, замість лікування, або одночасно з невірним лікуванням, б'є по здоров'ю дитини, доводячи до порушень пробіотичної мікробіоти, до алергічних проявів (ринітів та дерматитів), навіть до появи проявів бронхіальної астми. При хронічних ГРЗ запальні процеси впливають на лімфоїдну тканину, що може в решті решт пригнічувати власні імунні процеси в організмі дитини.

Ці негативні побічні дії безпосередньо пов'язані з нестачею білків-інтерферонів, недостатнім їх синтезом, що в свою чергу викликає незахищеність перед новою інфекцією та новий цикл хвороб. [8, 9]

Дослідженнями було встановлено, що під час частих гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) у дітей виявляється низький рівень утворення та накопичення інтерферону альфа-2b. Тому педіатри й пропонують терапію препаратами цього виду інтерферонів.

Біологічна дія інтерферону-альфа обумовлена впливом на синтез вірусної РНК, на зміну поверхневих мембран клітини, які не допускають прикріпленню вірусних частинок до мембрани та проникненню всередину клітини. Також відмічено, що інтерферон запускає захисні реакції відразу, поки інші специфічні імунні механізми тільки починають розвиватися.

І, ураховуючи відсутність стійкості (резистентності) багатьох вірусів до інтерферону, безсумнівною є актуальність та перспективність застосування препаратів інтерферону в терапії ГРВІ. [8, 9]

В науковій літературі є дослідження щодо використання інтерферонів різного технологічного походження: лейкоцитарні інтерферони отримують з

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

донорської крові, рекомбінантні інтерферони отримують мікробним синтезом.

Наприклад, дослідниками проведено дослідження препарату «Назоферон», який містить інтерферон альфа-2b людський. Визначали ефективність та переносимість препарату при ГРВІ на різних стадіях захворювання дітей від 0,5 до 5 років. Порівнювали перебіг захворювання в групі 1 при поєднанні симптоматичної терапії та «Назоферону» (краплі або спрій) з групою 2, яка отримувалі тільки симптоматичну терапію.

Ефективність визначали за зменшенням або зникненням симптомів та покращанням суб'єктивного стану. Як основні симптоми враховували підвищення температури, характер кашлю, носового дихання, виділень з носу. Стан пацієнтів оцінювали за поведінкою, активністю дитини та її апетитом. [3, 8]

Спочатку дослідження ефективність терапії в обох групах не відрізнялася, але в групі 1 симптоматика покращувалася швидше, апетит відновлювався також швидше, від третього дня лікування було припинено застосування жарознижувальних засобів. Для дітей групи 2 не можна було відмовитися від цих засобів до п'ятого дня.

Ускладнення захворювання, як-от: отити, синусити – спостерігалися в обох групах в близьких кількостях випадків. Але в групі 1 ускладнення частіше виліковувалися без додавання до схеми лікування антибіотиків, в групі 2 необхідним було призначення антибіотиків на 3-5 день хвороби. Такий факт пояснюють антибактеріальними ефектами інтерферонів, його здатністю індукувати неспецифічний захист шляхом активування фагоцитозу та НК-клітин («природні кілери»). [9]

Безпечність і толерантність препарату визначали за наявністю чи відсутністю побічних реакцій. Важких побічних ефектів внаслідок прийому Назоферону не виявлено.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		11

Отже, ці результати підтверджують ефективність препарату Назоферон для проведення терапевтичних заходів для дітей, які хворіють на ГРВІ. [3, 8, 9]

1.3 Характеристика методів одержання інтерферонів.

Розробка способів отримання інтерферону - складний і багатоплановий процес. Дослідження з переносу генів інтерферонів людини в бактеріальні клітини розпочалися приблизно у 1977-1978 роках. Наприкінці 1970-х років групи дослідників у Швейцарії, Японії та США одночасно розпочали ці дослідження. Проте на той момент інформація про структуру білка інтерферону була неявною, що ускладнювало отримання його гену шляхом хімічного синтезу. Додатково, частка інтерференової мРНК у суміші мРНК, що кодують різні білки, була дуже невелика - близько 0,1%, що робило виділення складним. Для клонування гену інтерферону всі дослідники використовували метод зворотної транскрипції мРНК. Протягом короткого періоду (1979-1982 роки) гени інтерферонів були клоновані в *E. coli*. Відомо, що інтерферони синтезуються спочатку у вигляді попередників, що містять сигнальний пептид на N-кінці, який потім відщеплюється, утворюючи зрілий біологічно активний інтерферон. Першим був клонований ген фібробластного інтерферону у 1979 році в Японії. Визначення нуклеотидної послідовності показало, що β -інтерферон є поліпептидом з 187 амінокислот. [10-13]

Процес секреції преінтерферону з клітини передбачає відщеплення сигнального пептиду з 21 амінокислоти. Зрілий β -інтерферон включає 166 амінокислот. Генетичні послідовності α - і γ -інтерферонів були клоновані у 1980 і 1982 роках відповідно. Преінтерферони складаються відповідно з 189 і 166 амінокислот, а зрілі інтерферони – з 166 і 146 амінокислот. Сигнальний пептид містить відповідно 23 і 20 амінокислоти. Перше успішне клонування гена лейкоцитарного інтерферону в СРСР відбулося у 1982 році. [10]

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		12

Конструювання штамів-продуцентів інтерферонів включає складний і багатоетапний процес. Зазвичай ген інтерферону отримують методом зворотної транскрипції, що передбачає передачу інформації від мРНК до ДНК. Лейкоцити, виділені з крові, обробляють вірусом Сендай для індукції біосинтезу інтерферонів. Потім вони видаляють нуклеотиди, що кодуєть інтерферон, із суспензії. За допомогою ферментів зворотної транскрипції створюють комплементарну копію ДНК, яка утворює комплекс ДНК-РНК. Після відокремлення одноланцюгової кДНК створюють другу комплементарну нитку ДНК. Ген інтерферону має структурний ген, промотор, оператор та ділянку зв'язування рибосоми, і складається з близько 1,2 тисяч нуклеотидів.

Відомий також спосіб, яким було отримано ген інтерферону англійськими вченими. Визначивши нуклеотидну послідовність цього гену, його отримали фрагментарним хімічним синтезом. Тобто синтезували фрагменти гена, які потім з'єднали у певній послідовності. Фрагментів синтезували 8. З них отримали штучний ген, який налічує 514 нуклеотидів. Тривалість синтезу виявилась не швидшою, ніж попередньо описаний спосіб.

Безпосередньо з людських клітин виділяють гени інтерферону-альфа, оскільки вони містять лише екзони. [10, 14]

Для застосування інтерферонів в практичній медицині та фундаментальних дослідженнях необхідно мати найбільш зручний та продуктивний спосіб. Такий спосіб при сучасному рівні розвитку біотехнологій – це мікробний синтез, який застосовують для отримання багатьох біологічно активних речовин.

А проведення такого синтезу вимагає наявності мікроорганізмів-продуцентів, які генетично змінені для надання їм здатностей виробляти певну необхідну речовину.

Дослідження з отримання рекомбінантних продуцентів проводили на багатьох видах та штамів мікроорганізмів. Розглянемо отримання рекомбінантного штаму кишкової палички. (Рис. 1.1)

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		13

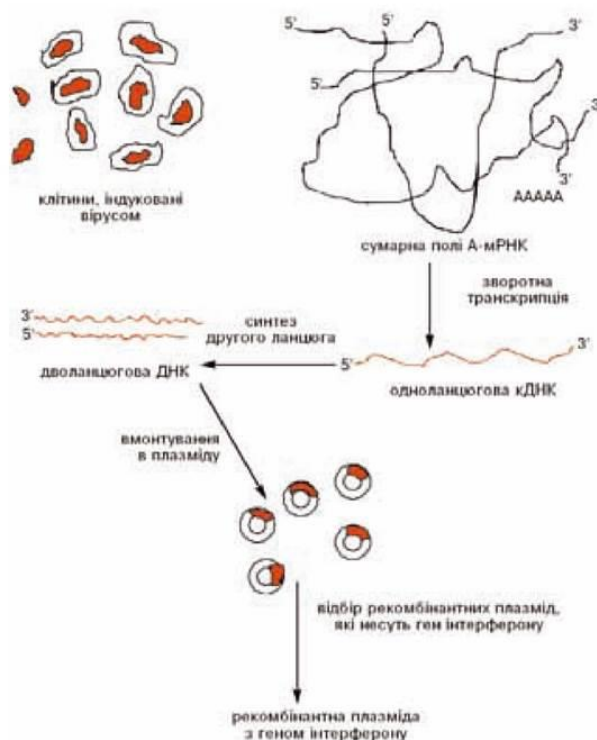


Рис. 1.1 - Схема клонування генів інтерферону людини. [10]

Схема отримання продуценту інтерферону складається з

- введення гену, який кодує амінокислотну послідовність необхідного білку, в бактеріальну ДНК, яка буде вектором, зазвичай це плазміда;
- забезпечити експресію цього гену в бактеріальній клітині, додавши певні регуляторні компоненти.

Для цього отримують рекомбінантну плазмідку кишкової палички шляхом обробки ферментом-рестриктазою, яка перетворює форму кільця на лінію з «липкими» кінцями. Оброблюють також кодуючу ДНК. Потім ці послідовності з'єднують, оброблюють ДНК-лігазою та отримують нову плазмідку з вбудованим геном інтерферону.

Рекомбінантна *E. coli* з новою плазмідкою теоретично здатна синтезувати інтерферон. Але практично ця задача дещо складніша, тому що вбудований ген має еукаріотичне походження та для його експресії необхідні певні сигнали початку процесу. Тому до гену, який вбудовують, додають ще певні ланцюжки з нуклеотидів, які необхідні для початку транскрипції, а далі – трансляції (рис. 1.2). [10, 12, 14]

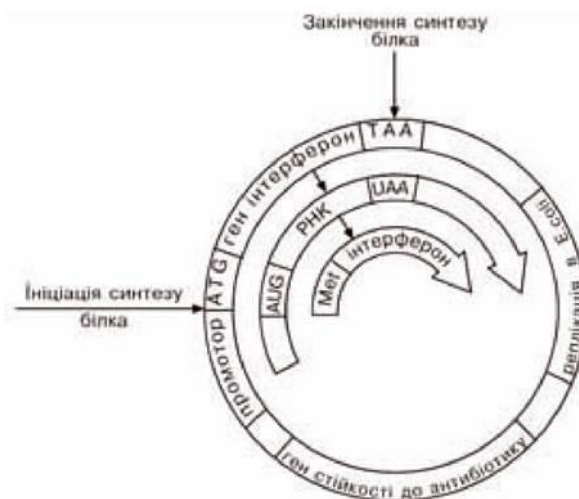


Рис. 1.2 - Схема рекомбінантної плазмиди *E.coli*, яка кодує синтез інтерферону людини (за Дебатовим В.Г., Лівшицом В.А.І., 1988). [10]

Окрім ініціації та проведення синтезу інтерферону клітинами *E. coli*, є ще низка труднощів, з якими стикнулися при розробці технології отримання рекомбінантного інтерферону.

Інтерферон накопичується в середині клітини кишкової палички. Отже, необхідно проводити серію операцій з виділення білку з біомаси та його очистка від сторонніх білків та домішок.

Одним зі способів очистки інтерферону є хроматографія із застосуванням моноклональних антитіл – імуноглобулінів. [11-13]

При конструюванні рекомбінантної плазмиди до неї додають також фрагмент антибіотикорезистентності.

У подібний спосіб отримують й інші інтерферони, глікопротеїнової природи – бета та гамма. Відомо також отримання гібридних інтерферонів, в структурі яких є частини двох типів цих білків.

Рекомбінантний інтерферон є неглікозильованим через відмінність про- та еукаріотичних клітин. Клітини кишкової палички не синтезують ферменти, які каталізують приєднання вуглеводів до молекули білку. Для подолання цієї проблеми отримали рекомбінантний штам дріжджів *Sacharomyces cerevisiae*, і вже ці продуценти синтезували інтерферони-бета та –гамма. Згадка про ці роботи, проведені в США, з'явилася у 1981 р.

Використання дріжджових клітин виявилося більш ефективним, ніж бактерій. По-перше, отримували глікозильований інтерферон. По-друге, продуктивність процесу збільшилася майже в 10 разів.

Окрім згаданих рекомбінантних мікроорганізмів, для отримання інтерферонів відомо використання клітинних ліній еукаріот: комах (мух-дрозофіл) та ссавців (фібробласти людини, лейкоцити тощо). [14, 15]

Одержання вдосконалених інтерферонів.

Незважаючи на спільні риси, кожен тип інтерферону має свої відмінності.

Наприклад, інтерферони α мають певні відмінності в дії на клітини різних походжень. Завдяки досягненням у рекомбінантних технологіях ДНК та молекулярній біології відкриваються можливості для покращення терапевтичних властивостей інтерферонів шляхом направлених змін їх генів.

Шляхом розщеплення відповідних генів однією і тією ж рестрикційною ендонуклеазою, виділення N- і C-кінцевих фрагментів генів, а потім їх обмін, можна отримати гібридні гени.

Після їх введення в бактерії або інші клітини-господарі, ці гібридні гени будуть програмувати синтез гібридних інтерферонів. Гібридні інтерферони виявилися дуже відмінними за властивостями від вихідних інтерферонів. Таким чином, відкриваються можливості для створення нових медичних препаратів. Крім отримання гібридних генів інтерферонів, методами генетичної інженерії можна змінювати будь-яку частину гена за необхідності. Також, за допомогою методів хіміко-ферментативного синтезу можна синтезувати повністю нові гени інтерферонів. [16-17]

1.4 Маркетинговий аналіз ринку назальних спреїв в Україні, переваги та недоліки назальних спреїв.

При проведенні маркетингового аналізу ринку з'ясовується, що частина вітчизняних засобів з противірусною дією на фармацевтичному ринку України (на 2018 р.) складає 52 %.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						16
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Сучасна практика в лікуванні гострого синуситу застосовує препарати для назального застосування, що активізують симпатичну систему. Зазвичай це монокомпонентні препарати. Вони здатні тільки зменшити симптоми захворювання і не впливають на механізми розвитку гострих респіраторних вірусних інфекцій.

В науковій літературі [18, 19] описані медико-наукові експерименти для дослідження терапії базальноклітинної карциноми (БКК) інтерфероном альфа-2b. Таке місцеве лікування є альтернативою хірургічному втручанню. Пацієнти з БКК піраміди носа отримували інтраназальний інтерферон альфа-2b. Шкірні біопсії виконувалися до і після лікування для гістологічного дослідження. Було проліковано пацієнти переважно з інфільтративною гістологічною формою (80%). У всіх випадках була підтверджена повна клінічна та гістологічна регресія, а естетичні результати були відмінними. Після чотирьох років спостереження персистенції пухлини не спостерігалось. Найчастішими небажаними явищами були транзиторні грипоподібні симптоми легкого та середнього ступеня тяжкості у 95% пацієнтів та безсимптомна лейкопенія або нейтропенія у 25%. Ці результати свідчать про те, що інтраназальний інтерферон альфа-2b є безпечним та ефективним нехірургічним альтернативним підходом до лікування БКК носової піраміди.

На підставі аналізу ринку підтверджено вибір лікарських форм для лікування захворювань носа та назофарингеального простору, а також визначено назальний препарат інтерферону у формі спрею для терапії гострого синуситу, гострих респіраторних вірусних інфекцій та вірусно-бактеріальних захворювань у дорослих і дітей. [1-3]

Привабливість назальних форм складається з таких характеристик, як зручність у використанні, гігієнічність, швидкість настання дії та висока ефективність, естетичний зовнішній вигляд. [4]

До недоліків відноситься обмеженість об'єму для одноразового використання, надмірний вплив на слизову носової порожнини при тривалому або частому прийомі. Також є певні проблеми з точністю

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		17

дозування, що пов'язано з абсорбуванням препарату, яке залежить від стану слизової, епітелію, способом внесення препарату (краплі, спреї, аерозоль). Певна кількість розчину препарату може проковтнутися. [2, 4]

Контейнери для упаковки назальних спреїв герметично закриваються для запобігання забрудненню препарату ззовні, а також для запобігання висихання препарату, впливу світла та вологи.

1.5 Характеристика аналогів препарату «Лаферобіон» на фармацевтичному ринку

Препарат «Лаферобіон» — противірусний, антимікробний, протизапальний, імуномодулюючий, антипроліферативний засіб, попит на цей препарат зростає. Отже, розглянемо його аналоги для назальної форми, наведені нижче в табл. 1.1)

Висновок до розділу 1:

Проведено аналіз властивостей інтерферонів та визначено основні галузі їх застосування. Встановлено, що інтерферони відіграють важливу роль у противірусній терапії, мають широке застосування в медицині та використовуються для лікування різних вірусних інфекцій.

Проаналізовано ефективність препаратів інтерферону в лікуванні гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ). Результати досліджень підтверджують високу ефективність інтерферонів у зменшенні тривалості та важкості симптомів ГРВІ, що робить їх важливим компонентом противірусної терапії.

Наведено характеристику методів одержання інтерферонів. Розглянуто різні технології виробництва, їх переваги та недоліки, що дозволяє вибрати оптимальні підходи для виробництва інтерферонів високої якості.

Здійснено маркетинговий аналіз ринку назальних спреїв в Україні. Проаналізовано конкурентне середовище, виявлено основні тенденції та перспективи розвитку ринку назальних спреїв. Проведено характеристику

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		18

аналогів препарату «Лаферобіон» на фармацевтичному ринку, що дозволяє визначити конкурентні переваги та недоліки «Лаферобіону» в порівнянні з іншими препаратами, представленими на ринку, і тим самим обґрунтувати необхідність удосконалення його виробництва.

Таким чином, розглянуто характеристики інтерферонів, їх ефективність у лікуванні ГРВІ, методи отримання, маркетинговий аналіз ринку назальних крапель, а також аналіз аналогів препарату «Лаферобіон». Отримані результати слугують основою для подальшого удосконалення виробничих процесів та підвищення якості лікарських засобів на основі інтерферонів.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						19
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Зм.					
Арк.					
№ докум.					
Підпис					
Дата					
162.01.01.00 000 ПЗ					
Арк.					
20					

Таблиця 1.1 - Аналоги препарату «Лаферобіон» [20, 21]				
Назва препарату	Форма випуску	Склад	Показання	Виробник
1	2	3	4	5
Назоферон	Спрей назальний 100000 МО/мл. Флакон скляний 5 мл, з насосом-дозатором з розпилювачем. По 1 флакону в пачці	Інтерферон альфа-2b рекомбінантний людини; Допоміжні речовини: трометамол, трометамолу НСl, гіпромелоза, динатрію едетат, лізину НСl, КСl, ніпагін, вода для ін'єкцій	Профілактика та лікування, діти та дорослі: - часті та тривалі захворюваннях верхніх дихальних шляхів; - контакт з хворими на ГРВl; - переохолодження; - сезонні піки захворюваності, - групи «ризик», особливо у період епідемії	ПАТ «Фармак»
Назоферон	Краплі назальні 100000 МО/мл. По 5 мл у скляних флаконах, закупорених крапельницями. По 1 флакону в пачці	Те ж	Те ж	ПАТ «Фармак»
Лаферобіон	Спрей назальний 100000 МО/мл. Флакон скляний 5 мл, з насосом-дозатором з розпилювачем. По 1 флакону в пачці	Те ж	Те ж	ТОВ «ФЗ «Біофарма»
Лаферобіон	Краплі назальні 100000 МО/мл. Флакон скляний 5 мл, з мікродозатором-крапельницею. По 1 флакону в пачці	Те ж	Те ж	ТОВ «ФЗ «Біофарма»

162.01.01.00 000 IT3

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

Назва лікарського засобу: «Лаферобіон». [20]

Реєстраційне посвідчення UA/13779/02/01 за Наказом МОЗ №1397 від 03.08.2023 р.

Лікарська форма: краплі назальні.

Форма випуску: по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці з картону.

Склад:

діюча речовина: interferon alfa-2b. 1 мл препарату містить інтерферону альфа-2b рекомбінантного людини 100 000 МО;

допоміжні речовини: триметамол, триметамолу гідрохлорид, гіпромелоза, динатрію едетат, лізину гідрохлорид, калію хлорид, метилпарагідроксибензоат (Е 218), вода для ін'єкцій

Основні фізико-хімічні властивості: прозора безбарвна рідина.



Рис. 2.1. Торгівельна упаковка препарату «краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці з картону».

Упаковка: Первинна упаковка – флакони темного скла по 5 мл, мікродозатор-розпилювач. Вторинна упаковка пачка з картону (по 1 фл.).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		22

Умови зберігання: Зберігати в оригінальному упакованні для захисту від впливу світла при температурі від 2 до 8 °С. Зберігати в недоступному для дітей місці.

Термін придатності: 2 роки. Термін придатності після відкриття флакона, при зберіганні при температурі від 2 до 8 °С, - 10 діб.

Вимоги до продукції (показники контролю якості):

Ідентифікація:

1. Метод *in vivo* – має проявляти біологічну противірусну активність.
2. Імунологічні методи: Включають ELISA (ензимоімунний аналіз) або імунофарбування для специфічного визначення інтерферону альфа-2b за допомогою антитіл.
3. Хроматографічний аналіз: Застосовується для визначення розподілу різних компонентів у зразку. Це може включати високоефективну рідинну хроматографію (HPLC) або газову хроматографію (GC). Інтерферон альфа-2b може бути виявлений за допомогою ретенційного часу або характерного спектру піків.
4. Мас-спектрометрія: Використовується для визначення маси молекули інтерферону альфа-2b. Мас-спектрометр може підтвердити відповідність маси молекули виміряним значенням із відомою масою інтерферону альфа-2b.

Прозорість. Має бути прозорим.

pH від 6,8 до 7,7.

Метилпарагідроксибензоат. Від 0,297 до 0,363 мг в 1 мл препарату.

Специфічна активність. Від 80% до 125% від номінального вмісту;

Об'єм вмісту упаковки не менше 5 мл.

Мікробіологічна чистота. Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) та дріжджових і пліснявих грибів (ТУМС) сумарно: критерії прийнятності 10 КУО/мл.

Відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 мл;

Відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						23
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2.2 Характеристика сировини, матеріалів та напівпродуктів

Функціональне призначення допоміжних речовин у препараті з інтерфероном альфа-2b рекомбінантним людини таке:

1. Трометамол і трометамолу гідро хлорид. Ці речовини додані як буферні компоненти для забезпечення оптимального рН препарату, а також впливають на його осмотичний тиск.
2. Гіпромелоза. Цю речовину додано як загущувач для забезпечення однорідності та стабільності розчину препарату.
3. Динатрію едетат. Додано як хелатуючий агент, який запобігає впливу металів на стабільність препарату.
4. Лізину гідрохлорид. Використовується для регулювання рН розчину та як стабілізуючий агент.
5. Калій хлорид. Використовується як електроліт, що допомагає зберігати електролітний баланс у розчині препарату.
6. Метилпарагідроксибензоат (Е 218). Це антимікробний консервант, який забезпечує мікробіологічну стабільність препарату.

Характеристика сировини що використовуються при виробництві Лаферобіону, крапель назальних наведена у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Характеристика сировини для виробництва лікарського засобу «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці з картону

Найменування	Категорія та номер НТД	Показники НТД, обов'язкові для перевірки	Примітка
1	2	3	4
1. Основна сировина			
Інтерферону альфа-2b розчин концентрований	ДФУ 2.0 , т. 2, с. 310 [22]	Опис, ідентифікація, залишкові білки клітини-хазяїна, залишкова ДНК клітини-хазяїна або вектора, домішки із молекулярною масою, відмінною від молекулярної маси	Діюча речовина

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
		інтерферону альфа-2, супровідні білки, бактеріальні ендотоксини, білок, активність, маркування.	
Трометамол	ДФУ 2.0 , т. 2, с. 638 [22]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість розчину, кольоровість розчину, рН, супровідні домішки, хлориди, важкі метали, залізо, втрата в масі при висушуванні (не більше 0,5%), сульфатна зола, бактеріальні ендотоксини, кількісний вміст (99,0-100,5 % , у перерахунку на суху речовину)	Допоміжна речовина, буферний агент
Трометамолу гідрохлорид	Згідно з СПЦ- , НТД «SigmaAldrich»	рН, чистота, розчинність, супровідні домішки, хлориди, важкі метали, залізо, втрата в масі при висушуванні, сульфатна зола, бактеріальні ендотоксини, кількісний вміст	Допоміжна речовина, буферний агент
Гіпромелоза	ЕФ, 10 вид. [23]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість, кольоровість розчину, рН, в'язкість, важкі метали, втрата в масі при висушуванні (не більш 5%), сульфатна зола, кількісний вміст	Допоміжна речовина, загущувач
Динатрію едетат	ДФУ 2.0 , т. 2, с. 200 [22]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість розчину, кольоровість розчину, рН, домішка А, важкі метали, залізо, хлориди, сульфати, кількісний вміст (98,50-101,0 %)	Допоміжна речовина, стабілізатор
Лізіну гідрохлорид	ДФУ, 2 вид., доп. 2, ст. 403 [24]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість розчину, кольоровість розчину, рН, питома оптичне обертання, речовини, виявлювані нінгідрином, сульфати, залізо, важкі метали, залізо, втрата в масі при висушуванні (не більше 0,5%), сульфатна зола, кількісний вміст (98,5-101,0 % , у перерахунку на суху речовину)	Допоміжна речовина

1	2	3	4
Калій хлорид	ДФУ, 2 вид., доп. 2, ст. 331 [24]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість розчину, кольоровість розчину, кислотність або лужність, броміди, йодіди, сульфати, алюміній, барій, залізо, магній та лужнозем. метали, натрій, важкі метали, арсен, втрата в масі при висушуванні (не більше 1,0%), сульфатна зола, кількісний вміст (99,0-101,0 % , у перерахунку на суху речовину)	Допоміжна речовина, застосовується для отримання ізотонічних розчинів
Метилпарагідроксibenzoат (Е 218)	ДФУ, 2 вид., доп. 2, ст. 444 [24]	Опис, розчинність, ідентифікація, прозорість розчину, кольоровість розчину, кислотність, супровідні домішки, сульфатна зола, кількісний вміст (98,0-102,0 %, у перерахунку на суху речовину)	Допоміжна речовина, антимікробний консервант
Вода для ін'єкцій	ДФУ 2 вид., доп. 2, ст. 125 [24]	Опис, нітрати, алюміній, бактеріальні ендотоксини	Розчинник
2. Допоміжна сировина			
Вода очищена	ДФУ 2 вид., доп. 2, ст. 129 [24]	Опис, нітрати, вміст загального органічного вуглецю або речовини, що окиснюються, питома електропровідність, мікробіологічна чистота	Для миття флаконів, для санпідготовки обладнання
Вода питна	ДСанПіН 2.2.4-171-10 [25]	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю.	Холодоагент, сировина для підготовки води очищеної та для ін'єкцій
Водню пероксид	ОСТ 301-02-205-99, марка мед. ГОСТ 177-88, змін. №1, №3, ДФУ 2.0 [22]	Зовнішній вигляд, масова частка пероксиду водню, масова концентрація вільної кислоти (у перерахунку на сірчану кислоту), масова концентрація нелетючого залишку, вміст миш'яку, Мікробіологічна чистота	Для приготування дезінфікуючого розчину

Мийний засіб	«Бланідаз» ТУ У 20.4-36423868-007:2013	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для санобробки, для приготування дезрозчину з миючим засобом
Спирт етиловий ректифікований	ДСТУ 4221:2003 «Екстра», «Вищої очистки»	Опис, колір, смак, запах, об'ємна частка етилового спирту, проба на чистоту із сірчаною кислотою, проба на окислюваність, мікробіологічна чистота	Для приготування дезінфікуючого розчину
Натрій гідроксид	ГОСТ Р 55064-2012.	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Миття обладнання
Сульфанол	ТУ 075105 08. 135-98	Згідно з вимогами ТУ	Миючий засіб
Хлорне вапно	ГОСТ 1692-85	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Дезінфекція обладнання

3. Матеріали:

Етикетки самоклейки	ТУ 9570- 001-13866117- 2009	Щільність, товщина, тип клею	Для маркування препарату
Інструкція з медичного застосування	СПЦ-ПМ -	Зовнішній вигляд, відповідність макету. Цілісність упаковки	Для комплектування упаковки
Картон для споживчої тари	160 г/м ² ГОСТ 7933-89 або по ТУ 13-0281020-97-90	Зовнішній вигляд, вологість, ширина бобіни, маса, товщина	Для формування пачки
Марля медична	ТУ У 24.4-34588794-001:2007 Тип 17, шир. 90 см	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для допоміжних цілей
Мікродозатори-крапельниці	Марка 18-А 0.13мл	зовнішній вигляд, основні розміри	Для пакування препарату
Рукавички медичні	ДСТУ EN 455-3:2019	Не входить до переліку сировини, що підлягає вхідному контролю	Для захисту рук та напівпродукту
Скотч	ГОСТ 20477-86	Ширина стрічки, товщина клейового шару, довжина, липкість	Для транспортної тари

1	2	3	4
Фільтруючі мембрани рейтинг 0,8; 0,45; 0,2 мкм	НД фірм «Міліпор», «Сарторіус» або подібні	Цілісність упаковки, маркування, цілісність мембрани.	Для фільтрації води для ін'єкцій, розчину
Флакони 5 мл темного скла	Марка ФВ-5-18-ОС ВАТ «Мар'янівський склозавод»	Об'єм флакону, зовнішній вигляд, основні розміри	Для пакування препарату
3. Проміжні продукти			
Розчин «Лаферобіон» приготований	Методика міжопераційного контролю	Опис, рН, вміст метилпарагідроксибензоату, специфічна активність	Стадія 3 Операція 3.3
Розчин «Лаферобіон» фільтрований	Те ж	Прозорість, рН, вміст метилпарагідроксибензоату, специфічна активність, механічні включення	Стадія 3 Операція 3.3
Флакони з розчином «Лаферобіон» (наповнені, укупорені)	Те ж	Об'єм, що витягається, якість укупорювання	Стадія 4
Флакони з розчином «Лаферобіон»	Те ж	Герметичність, механічні включення та інші види браку	Стадія 6

2.3 Характеристика біологічного агента

При виробництві рекомбінантного інтерферону людини альфа-2b у якості продуценту використовується рекомбінантний штам кишкової палички – штам *E. coli* SX50, депонований у Всеросійській колекції промислових мікроорганізмів (колекційний номер В-8550) [13]. Властивості та характеристики штаму наведено в табл. 2.2.

Таблиця 2.2 - Характеристики штаму *E. coli* SX50

Показник	Характеристика
1	2
Відношення до кисню	Факультативний анаероб
Температура росту, °C	Температурний діапазон зростання 4-42 °C

1	2
Характеристика бактерій	Форма клітин паличкоподібна, бактерії прямі, потовщені, за розміром дрібні. Спор не утворюють. За Грамом негативні.
Отримання	Вихідний штам <i>E. coli</i> BL21 з рекомбінованою плазмідною рSX50
Граничний рівень рН росту	Від 6,5 до 7,5
Джерело азоту	Солі амонію, нітрати, амінокислоти, дріжджовий екстракт, пептон тощо
Джерело вуглецю	Амінокислоти, гліцерин, вуглеводи
Стійкі/Не стійкі до антибіотиків	Стійкі. Канаміцин до 100 мкг/мл
Зберігання штаму	L-агар з 20 мг/л антибіотика (канаміцин) під шаром олії. В ампулах з L-бульйоном, гліцерином (15%) та канаміцином. В рідкому стані при (-70) °C, в сублімованому при +4 °C.

Характеристика колоній

На твердому середовищі (агар «Діфко») утворюють колонії сірого кольору, з блиском, непрозорі, круглої форми, край – рівний.

В рідкому середовищі утворюють рівномірну рясну каламуть.

2.4 Біосинтез цільового продукту

Особливістю утворення інтерферону є його накопичення всередині клітин у вигляді «тілець-включень». Тому важливим є розробка способу вилучення інтерферону з біомаси. Штам *Escherichia coli* SX50 культивують в живильному середовищі, руйнують клітини мікроорганізму у дезінтеграторі типу Гаулін при тиску 900 bar, виділяють та очищують нерозчинну форму інтерферону з використанням детергентів і подальшим центрифугуванням, розчиняють осад у розчині гуанідин гідрохлориду та далі ренатурують інтерферон. [13]

Субстанцію інтерферону альфа-2b людини за технологію біосинтезу із використанням рекомбінантного мікроорганізму отримують у такий спосіб [13]:

Штам *E. coli* SX50 культивують глибинним способом з підживленням, далі клітини мікроорганізму механічно руйнують при високому тиску, відокремлюють розчинні клітинні компоненти від нерозчинного інтерферону, додають розчин для розчинення білка, що містить 8М сечовину, Тріс-HCl, EDTA та дитіотреїтол, проводять ренатурацію білка у буферному розчині, що містить окислений та відновлений глутатіон або сульфат міді, при постійному перемішуванні протягом 12-15 годин, фільтрують денатураційну суміш через мембранний фільтр та проводять на першій стадії катіонообмінну хроматографію на смолі типу CM Sepharose Fast Flow або SP Sepharose Fast Flow, на другій стадії застосовують оберненофазову хроматографію C18, потім знову катіонообмінну хроматографію на солі типу CM Sepharose Fast Flow або SP Sepharose Fast Flow та гель-фільтрацію на смолах типу Superdex 75.

Особливістю живильного середовища є знижений вміст амінокислоти триптофану.

До складу буферних розчинів, які використовують для позбавлення від нуклеїнових кислот, білків та інших клітинних фрагментів додають детергенти та хаотропні агенти, які руйнують клітинні мембрани. Наприклад, сечовина, Тритон XI00.

Проводять чотиристадійну хроматографічну очистку інтерферону. Отриманий продукт містить 99 % інтерферону (визначено електрофоретично) або 98 % за методом ВЕРХ з оберненою фазою. Субстанція вільна від пірогенів за LAL-тестом.

Окрім *E. coli* використовують рекомбінантні штами *Pseudomonas putido*.

Розглянемо одну з опублікованих технологій отримання рекомбінантного інтерферону альфа-2b. [13]

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.01.01.00 000 ПЗ

Арк.

30

Штам-продуцент *E. coli* SG 20050/plF16 вирощують у LB-бульоні, відділяють біомасу центрифугуванням. Оброблюють буферним розчином та ультразвуком (УЗ) для руйнування клітин. Лізат центрифугують, оброблюють хаотропним буфером з сечовиною. Осад суспендують буферованим розчином гуанідінхлориду та оброблюють УЗ. Суміш центрифугують, проводять сульфїтоліз натрія мета бісульфїтом та діалізують реакційну суміш проти розчину сечовини. Відновлення білкової структури та остаточне очищення проводять хроматоргафічно у дві стадії на CM-52 целюлозі та сефадексі G-50.

Процес можна поділити на 4 стадії:

Стадія 1. Ферментація.

Отримують 3 л інокуляту *E. coli* SG 20050/plF16.

Умови: багате живильне середовище LB, температура 26 °C, тривалість 12 год.

Основна ферментація.

Живильне середовище містить кислотний гідролізат казеїну – 1%, глюкозу – 1 %, ніобат магнію 1 мМ, хлорид кальцію 0,1 мМ, канаміцин - 4%. Кількість 27 л.

Умови: 38-39 °C, pH 7±0,15 (корегують 10М натрію гідроксидом). Аерація повітрям 1-15 л/хв. при перемішуванні 100-800 об/хв. Режим аерації повинен забезпечити 50±10 % розчиненого кисню від концентрації насичення. Підживлення – глюкозою.

Ферментацію зупиняють по досягненні максимальної оптичної густини (~ 25-30 о.о.) і появі зрілих «тілець включень», яку контролюють фазово-контрастною мікроскопією.

Ферментаційний бульон центрифугують у проточному роторі (5000-10000 об/хв.). Біомасу збирають та заморожують у пакетах при (-70) °C.

Стадія 2. Отримання та очистка інтерферону

Заморожену біомасу (100-150 г) змішують з буферним розчином 1, який містить 20 мМ трометаміну гідрохлориду, 10 мМ динатрію едетату, 0,1

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		31

% Тритону X100 (3 л). Суміш гомогенізують в гомогенізаторі Гаулін при 90 МПа. Потім центрифугують при 15 тис. об/хв.

Осад промивають буферним розчином 2 (20 мМ триметаміну гідрохлориду, 1 мМ динатрію едетату, 3 М сечовини) та змішують з 0,2 л буферного розчину 3, в якому 20 мМ триметаміну гідрохлориду, 1 мМ динатрію едетату.

pH всіх буферів 8,0. Тривалість стадії не більше 5 год.

Стадія 3. Осадження та відновлення білку.

До отриманої суспензії інтерферону в нерозчинній формі додають субстанцію хаотропного агенту (гуанідину гідрохлорид до 6 М або сечовина до 8М) та підлужують до 8,0 триметамолу г/х (до 20 мМ), трилон до 5 мМ та дитіотреїтол до 50 мМ та витримують 2 год.

Нерозчинний матеріал відділяють центрифугуванням з подальшою стерилізувальною фільтрацією через мембрану 0,2 мкм.

Для відновлення структури білка швидко розбавляють стерильний розчин в 100 разів буфером 7, в складі якого 20 мМ триметамолу г/х, 35 мМ натрію хлориду, 0,8 М сечовини, 0,1 % CHAPS або Тритону X-114, по 1 мМ окисленого та відновленого глутатіону або 25 мкМ сульфату міді. Витримують при перемішуванні 12-15 год. на холоді (12-16°C).

Ренатурований білок відфільтровують через мембрану 0,2 мкм.

Стадія 4. Очистка інтерферону.

Хроматографічну очистку інтерферону проводять у чотири етапи.

1. Катіонообмінна хроматографія на смолі «Сефароза». Єлюють у буфері 50 мМ ацетату натрію 5,0. На даній стадії досягається очистка інтерферону від компонентів ренатураційного буфера, білків та ДНК клітини хазяїна.

2. На другій стадії хроматографічної очистки розчин інтерферону піддають зворотно-фазовій хроматографії (Vydac). Домішки неправильно згорнутих та окислених ізоформ інтерферону відокремлюють за допомогою градієнта ацетонітрилу (30%→80%) у 0.2% трифтороцтовій кислоті.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						32
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3. Очистку від залишків органічних розчинників з одночасним концентруванням проводять за допомогою катіонообмінної хроматографії на смолі типу SP Sepharose Fast Flow або CM Sepharose Fast Flow (GE Healthcare) і інтерферон елюють градієнтом (0,0-0,5M) NaCl у буфері 50 мМ ацетату натрію 5,0.

4. Очистку від полімеризованого білку здійснюють гелі фільтрацією на смолі Superdex 75 у буфері 50 мМ ацетату натрію 5,0-7,0.

За 7-10 діб з біомаси, отриманої з 10 л бульону, получаять 5-7 г очищеної субстанції інтерферону альфа-2b, відповідної за якістю ЄФ [23]: вміст не менш $2 \cdot 10^8$ МО/мл, питома активність не менше $1,4 \cdot 10$ МО/мл; електрофоретична чистота не менше 98,4% у редукуючих та нередукуючих умовах при забарвленні гелів сріблом, вміст правильно ренатурованої форми не менше 95% за даними зворотnofазової ВЕРХ, ізoeлектрична точка 5,8-6,3, пептидна карта відповідає європейському стандарту *інтерферону альфа-2b CRS*, бактерійні ендотоксини не більше 100 МО на 1 мг інтерферону.

Ця відносно проста та надійна технологія забезпечує високий вихід інтерферону альфа-2b.

Технологічну схему отримання інтерферону альфа-2b рекомбінантного наведено на рис. 2.2.

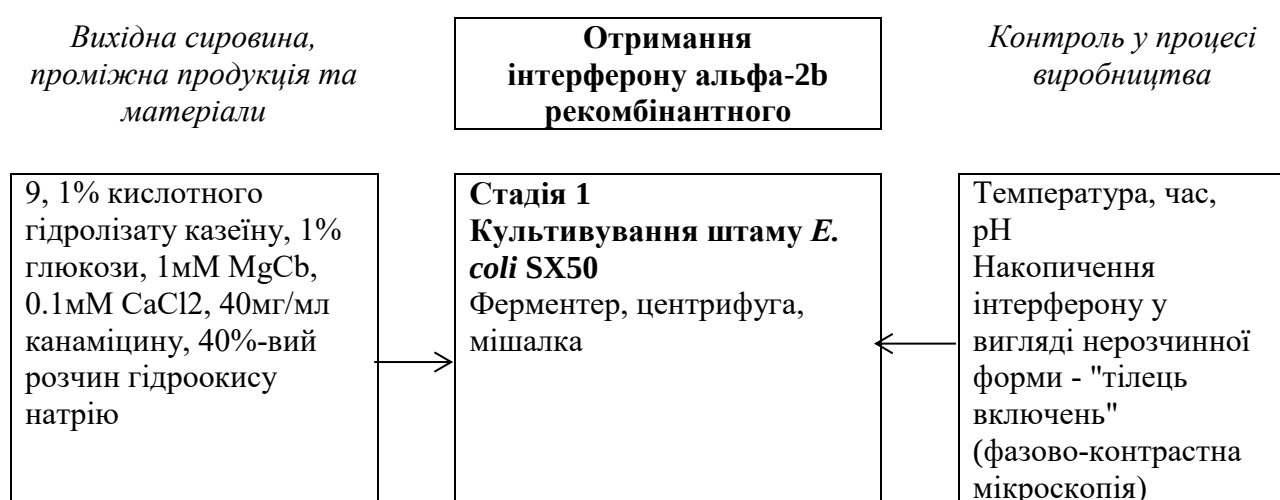
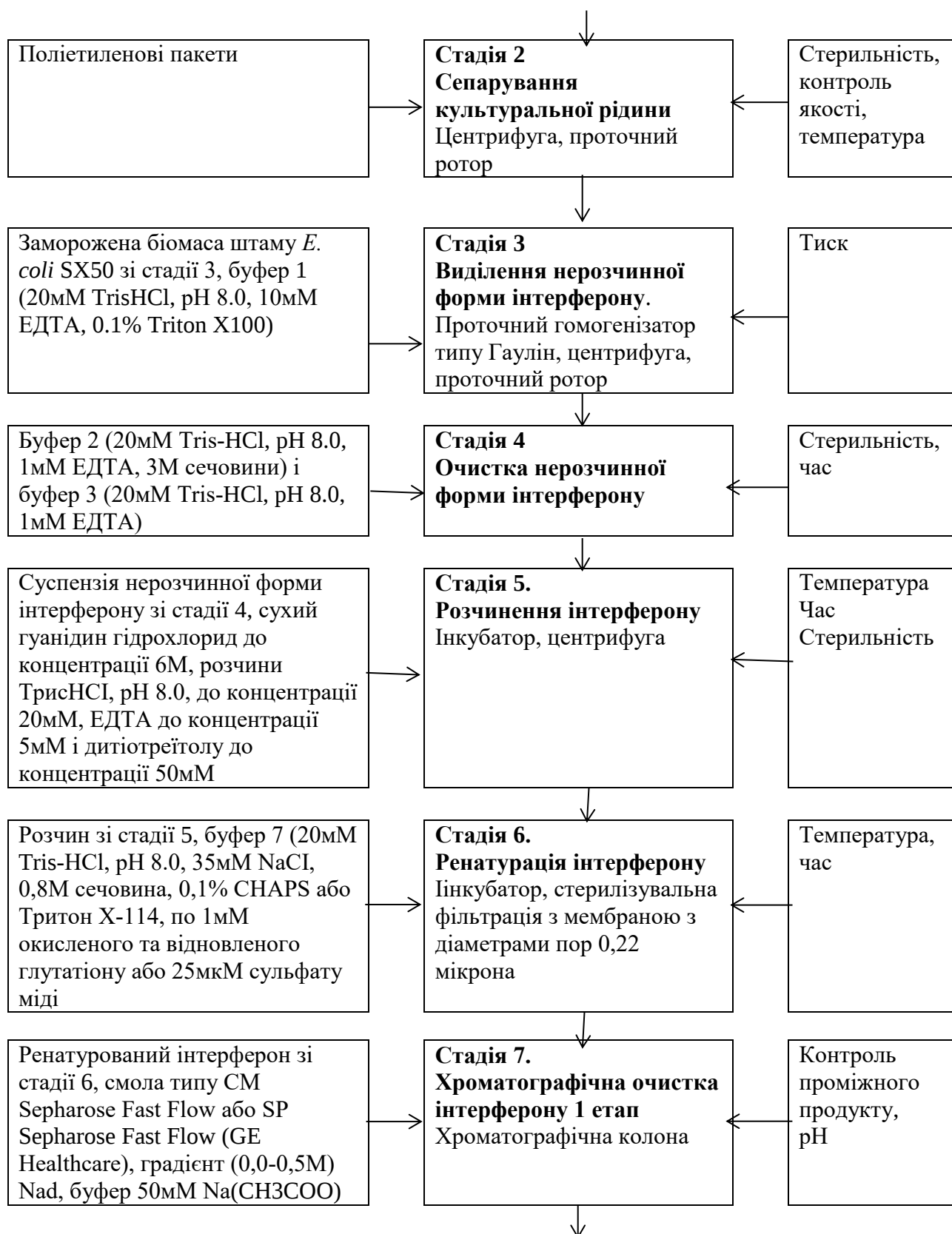


Рис. 2.2. Технологічна схема отримання інтерферону альфа-2b рекомбінантного.



Продовження рис. 2.2. Технологчна схема отримання інтерферону альфа-2b рекомбінантного.



Продовження рис. 2.2. Технологічна схема отримання інтерферону альфа-2b рекомбінантного.

В літературних джерелах є дані про технології одержання лейкоцитарного інтерферону людини з лейкоцитів донорської крові людини, які стимулюють для продукування інтерферонного білка вірусами та іншими індукуючими речовинами. [12, 14, 26]

Висновок до розділу 2:

Розглянуто характеристики готового продукту. Наведено основні фізико-хімічні властивості, терапевтичні показники та особливості зберігання препарату. Показано, що готовий продукт відповідає високим стандартам якості та ефективності.

Проведено детальний аналіз сировини, матеріалів та напівпродуктів, що використовуються у виробництві препарату. Визначено основні вимоги до якості вихідних компонентів, що дозволяє забезпечити стабільність і якість виробничого процесу.

Розглянуто характеристику біологічного агента, який використовується для синтезу інтерферонів. Описано біологічні властивості, методи культивування та підтримки біологічного агента, що є ключовим етапом у виробництві інтерферонів.

Наведено детальний опис процесу біосинтезу цільового продукту інтерферонів. Проаналізовано основні етапи біосинтезу, технологічні параметри та умови, що впливають на вихід і якість інтерферонів.

Таким чином, у розділі розглянуто характеристики готового продукту, сировини, матеріалів та напівпродуктів, біологічного агента, а також детально описано процес біосинтезу. Проведений аналіз є важливим для розуміння шляхів подальшого вдосконалення технологічних процесів.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		36

З ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок матеріального балансу

Матеріальний баланс виробництва лікарського засобу «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Матеріальний баланс стадій виробництва лікарського засобу «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці

Найменування	Вміст осн. речовин и, % Волога, %	Витрачено та отримано				
		Маса, кг			Об'єм, л	Кількість, шт
		загальн а	Основно ї речовин и	Кг/мол ь		
1	2	3	4	5	6	7
Витрачено на стадії 2 Підготовка первинної упаковки						
<i>Б. Матеріалів:</i>						
Флакони 5 мл						76250
Всього:						76250
Отримано на стадії 2						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Флакони 5 мл підготовані						75500
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Г. Втрат: 1 %</i>						
Флакони 5 мл						750
Всього:						76250
Витрачено на стадії 3 Приготування та фільтрація розчину						
<i>А. Сировини:</i>						
Інтерферону альфа- 2b розчин концентрований	$\geq 2 \cdot 10^8$ МО/мл	0,0002	0,0002			

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7
Трометамол	99,0 втр. при вис. $\leq 0,5\%$	2,436	2,400			
Трометамолу гідрохлорид	99,5 втр. при вис. $\leq 0,5\%$	0,202	0,200			
Гіпромелоза	втр. при вис. $\leq 5\%$	0,842	0,800			
Динатрію едетат	98,5	0,041	0,040			
Лізину гідрохлорид	98,5 втр. при вис. $\leq 0,5\%$	2,449	2,400			
Калій хлорид	99,0 втр. при вис. $\leq 1,0\%$	1,632	1,600			
Метилпарагідрокс сibenзоат	98,0	0,135	0,132			
Вода для ін'єкцій		392,063	392,228			
Всього:		400,000	400,000		400	
Отримано на стадії 3						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Розчин «Лаферобіон», в т.ч.			399,000			
- інтерферону альфа-2b			0,0002			
- трометамол			2,394			
- трометамолу гідрохлорид			0,199			
- гіпромелоза			0,798			
- динатрію едетат			0,0399			
- лізину гідрохлорид			2,394			
- калію хлорид			1,596			
- метилпарагідрокс и-бензоат			0,1316			
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Г. Втрат: 0,25%</i>						
Розчин «Лаферобіон», в т.ч.			1,000			
- інтерферону альфа-2b			0,000			

Продовження таблиці 3.1

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		38

1	2	3	4	5	6	7
- трометамол			0,006			
- трометамолу гідрохлорид			0,001			
- гіпромелоза			0,002			
- динатрію едетат			0,0001			
- лізину гідрохлорид			0,006			
- калію хлорид			0,004			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,0003			
Всього:			400,000			
Витрачено на стадії 4 Наповнення та укупорка флаконів з розчином						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Розчин «Лаферобіон», в т.ч.			399,000			
- інтерферону альфа-2b			0,0002			
- трометамол			2,394			
- трометамолу гідрохлорид			0,199			
- гіпромелоза			0,798			
- динатрію едетат			0,0399			
- лізину гідрохлорид			2,394			
- калію хлорид			1,596			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,1316			
Флакони 5 мл підготовані						75500
<i>Б. Матеріалів:</i>						
Мікродозатори-крапельниці						75500
Всього:			399,000			151000
Отримано на стадії 4						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Флакони з розчином «Лаферобіон», в т.ч.			395,009			74530
- інтерферону альфа-2b			0,0002			
- трометамол			2,370			
- трометамолу гідрохлорид			0,197			
- гіпромелоза			0,790			
- динатрію едетат			0,039			
- лізину гідрохлорид			2,370			
- калію хлорид			1,580			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,130			
- флакони 5 мл						74530
- мікродозатори-крапельниці						74530

Продовження таблиці 3.1

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		39

1	2	3	4	5	6	7
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Г. Втрат: 1,0%</i>						
Розчин «Лаферобіон», в т.ч.			3,991			
- інтерферону альфа-2b			0,000			
- трометамол			0,024			
- трометамолу гідрохлорид			0,002			
- гіпромелоза			0,008			
- динатрію едетат			0,0009			
- лізину гідрохлорид			0,024			
- калію хлорид			0,016			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,0016			
Флакони 5 мл						970
Мікродозатори-крапельниці						970
Всього:			399,000			151000
Витрачено на стадії 5 Маркування, пакування та відвантаження готового продукту						
<i>Б. Напівпродуктів:</i>						
Флакони з розчином «Лаферобіон», в т.ч.			395,009			74530
- інтерферону альфа-2b			0,0002			
- трометамол			2,370			
- трометамолу гідрохлорид			0,197			
- гіпромелоза			0,790			
- динатрію едетат			0,039			
- лізину гідрохлорид			2,370			
- калію хлорид			1,580			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,130			
- флакони 5 мл						74530
- мікродозатори-крапельниці						74530
<i>Б. Матеріалів:</i>						
Етикетки						74900
Інструкції						74900
Пачки						74900
Всього:			395,009			373760
Отримано на стадії 5						
<i>А. Готового продукту:</i>						
«Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, по 1 флакону у пачці, в т.ч.			381,600			72 000

Продовження таблиці 3.1

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		40

1	2	3	4	5	6	7
- інтерферону альфа-2b			0,00019			
- трометамол			2,289			
- трометамолу гідрохлорид			0,191			
- гіпромелоза			0,763			
- динатрію едетат			0,038			
- лізину гідрохлорид			2,289			
- калію хлорид			1,526			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,126			
- флакони 5 мл						72 000
- мікродозатори-крапельниці						72 000
- етикетки						72 000
- інструкції						72 000
- пачки						72 000
<i>В. Відходів:</i>						
<i>Б. Втрат:</i>						
Флакони з розчином «Лаферобіон», в т.ч.			13,409			
- інтерферону альфа-2b			0,00001			
- трометамол			0,081			
- трометамолу гідрохлорид			0,006			
- гіпромелоза			0,027			
- динатрію едетат			0,001			
- лізину гідрохлорид			0,081			
- калію хлорид			0,054			
- метилпарагідрокси-бензоат			0,004			
- флакони 5 мл						2530
- мікродозатори-крапельниці						2530
Етикетки						2900
Інструкції						2900
Пачки						2900
Всього:			395,009			373760

3.2 Розрахунок і вибір основного та допоміжного обладнання

Апаратне забезпечення виробничого процесу отримання назальних лікарських форм у флаконах відповідає затвердженому в технологічній документації розміру серії.

За даними матеріального балансу серія препарату «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, по 1 флакону у пачці складає 72 000 флаконів (400 л розчину).

3.2.1 Ваги електронні КП 4 та КП 5.

Взяття наважок для приготування розчину (Інтерферон альфа-2b, трометамол, трометамолу гідрохлорид, гіпромелоза, динатрію едетат, лізину гідрохлорид,) здійснюють на вагах. Їх вибір обумовлений технічними характеристиками: діапазонів мас та точністю.

На дільниці наявні ваги електронні КП 4 марки WALCOM LB3002 (максимальна маса наважки 3100 г. Ціна поділки: 0,01 г. Кількість: 1 шт.) та КП 5 марки EP 613 (максимальна маса наважки: 610 г. Ціна поділки: 0,001 г. Кількість: 1 шт.). На вагах КП 5 беруть наважки 0,0002 кг інтерферону альфа-2b, 0,202 кг трометамолу гідрохлориду, 0,041 кг динатрію едетату, та 0,135 кг метилпарагідроксibenзоату. Ваги КП 4 придатні для зважування з певним рівнем точності 2,436 г трометамолу, 0,842 г гіпромелози, та 2,449 лізину гідрохлориду та 1,632 кг калію хлориду.

3.2.2. Установка для фільтрації розчину Ф 7.

Приготований розчин фільтрують на установці для фільтрації розчину марки УПФ.Р з швидкістю фільтрації 3 м³/год.

Установка Ф 7 за продуктивністю повинна відповідати об'єму серії, а також ураховують властивості розчину. В цьому процесі розчин, який подають на фільтрацію водний, нев'язкий, тобто на швидкість фільтрації буде впливати тільки його навантаження механічними частинками.

Серія розчину 400 літрів.

Розрахуємо тривалість фільтрації:

$$400/3000 = 0,13 \text{ години.}$$

Отже, час, необхідний для фільтрації нетривалий, що є перевагою в асептичному виробництві. Кількість установок, наявна на дільниці – 1, що є прийнятним.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		42

3.2.3. Автоматична лінія шприцевого миття флаконів ГФ 9.

Флакони наповнюють на автоматичній лінії шприцевої мийки флаконів, з озвучуванням. Модель лінії QCL168, продуктивність 35000 фл./год.

За технічними характеристиками лінія за продуктивність відповідає регламентованому виробничому навантаженню:

- кількість флаконів на мойку 76250;
- місткість флаконів - 5 мл.

Розрахуємо тривалість мойки на лінії:

$$76250/35000 = 2,18 \text{ год.}$$

Отже, протягом робочої зміни (8 год.) можливо підготувати необхідну кількість флаконів на серію, провести необхідні супровідні операції, ї ще залишиться потенціал для збільшення розміру серії.

3.2.4. Обладнання наповнення та укупорки флаконів ГП 11.

Наповнення флаконів розчином та їх укупорку проводять на обладнанні для наповнення моделі AGF16/18 з продуктивністю 30000-46000 фл./год.

На ділянці наявна 1 одиниця цього обладнання.

Розрахуємо тривалість процесу наповнення та укупорки серії флаконів.

Ураховуємо такі дані: розчин водний, кількість 399 л, об'єм розчину, який повинен бути у наповненому флаконі 5,15 мл.

Розрахуємо теоретичну кількість доз наповнення (0,00515 л) в розчині, який надійшов на наповнення: $399/0,00515 = 77476$ доз.

Тоді тривалість наповнення: $77476 / 38000 = 2,01$ год.

Отже, час розливу 2 год, що доводить достатність 1 одиниці обладнання для цього технологічного процесу.

3.2.5. Етикетувальне обладнання для флаконів ГФ 12.

Наклеювання етикеток-самоклейок на флакони відбувається на Етикетувальне обладнанні для флаконів марки ESA 1025. Машина за технічними характеристиками забезпечує швидкість 25000 етикеток/год.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Перевіримо достатність 1 одиниці обладнання для регламентованого розміру серії за формулою (3.1).

Як для апаратів безперервної дії:

$$N = \frac{M_{зм}}{T_{\text{еф.р.}} \cdot m}, \quad (3.1)$$

де N – кількість апаратів; ліній, од;

$M_{зм}$ – кількість сировини, що перероблюється, продукту, що виробляється, на операції за зміну, кг; $T_{\text{еф.р.}}$ – ефективний час роботи апарату за зміну, год (приймається у межах 4-6 год при 8-годинній тривалості зміни); m – годинна продуктивність апарату, кг(шт)/год. [32]

$$N = 74530 / (5 \cdot 25000) = 0,57$$

$0,57 < 1$, тобто 1 одиниці цього обладнання вистачить для етикетування серії.

Тривалість роботи з етикетування складе:

$$74530 / 25000 = 3,33 \text{ год.}$$

3.2.7. Автоматична картонажна машина ГФ 13.

Упаковка флаконів в пачки здійснюється на автоматичній картонажній машині марки DELTA-100. Її технічна результативність – 500 пачок/хв.

Ураховуємо такі дані: кількість флаконів на упаковку - 74530 шт.; кількість флаконів в пачці – 1 шт.

Перевіримо достатність 1 одиниці обладнання для регламентованого розміру серії за формулою (3.1).

$$N = 74530 / (5 \cdot 500 \cdot 60) = 0,5$$

$0,5 < 1$, тобто 1 одиниці цього обладнання вистачить для упаковки флаконів даної серії.

Тривалість роботи з упаковки флаконів в пачки складе:

$$74530 / 500 \cdot 60 = 2,5 \text{ год.}$$

Ці результати є прийнятними, та мають потенціал для розширення обсягу виробництва.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						44
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.2.8. Розрахунок основного апарату - Реактор для приготування розчину модель K500L.

На підприємстві регламентовано приготування розчину в кількості 200 л. Цей об'єм і визначає розмір серії. Ураховуючи затребуваність назальних крапель «Лаферобіон», запропоновано збільшення розміру серії вдвічі, для чого необхідно замінити наявний реактор на інший, з більшим об'ємом. Відповідність продуктивності решти обладнання, наявного на дільниці, дозволяє провести запроповану заміну. Також наявний реактор має застарілу конструкцію та певний рівень зносу.

Запропоноване технічне рішення завдяки сучасному рівню виконання нового реактору, який обладнаний датчиками та пристроями автоматизації, здатний до більш високого рівню автоматизованого контролювання процесом приготування розчину, виготовлений з високоякісної нержавіючої сталі AISI 316 L, адаптований до CIP-мийки, енергоємний, є доцільним. Перевагами удосконалення також є те, що нове обладнання може обслуговуватися 1 налагоджувальником (замість 2) та зменшиться кількість днів простою через ремонтні роботи, які займали виробничий час (на профілактичні та ремонтні роботи витрачалось до 20 робочих днів, а тепер планова профілактика займатиме 10).

Перевіримо достатність 1 реактору для запропонованого розміру серії
Для апаратів періодичної дії [32]:

$$N = \frac{M_{зм}}{V \cdot K_{\eta} \cdot T_{\eta}}$$

$$N = 400 / (500 \cdot 1 \cdot 1) = 0,8$$

$0,8 < 1$, тобто 1 одиниці цього обладнання вистачить для приготування запропонованого об'єму розчину даної серії.

Розрахуємо коефіцієнт для використання обладнання [32]:

$$K_{\text{еф.вик}} = (T_{\text{ф.р.}} + T_{\text{п.з.}}) / T_{\text{зм}}, \quad (3.2)$$

$$K_{\text{еф.вик}} = (1 + 2) / 8 = 0,38.$$

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		45

Таблиця 3.2 - Основні розміри, мм

d1	d2	d3	d4	d5	h1	h2	h3	h4	h	B	Φ
900	1000	1130	810	500	1000	415	280	400	2985	270	23

Таблиця 3.3 – Таблиця штуцерів

Позн.	Найменування	Кільк.	Прохід умовний Ду, мм
a	Вхід сировини	1	150
b	Вхід рідини	1	100
c	Гільза термопари	1	64
d	Вихід рідини	1	80
e1, e2	Оглядове скло	2	80
f	Патрубок для манометра	1	100
g	Патрубок для термометра	1	125
k1, k2, k3	Патрубок теплоносія	3	32
m	Вентиляційний	1	G3/8"

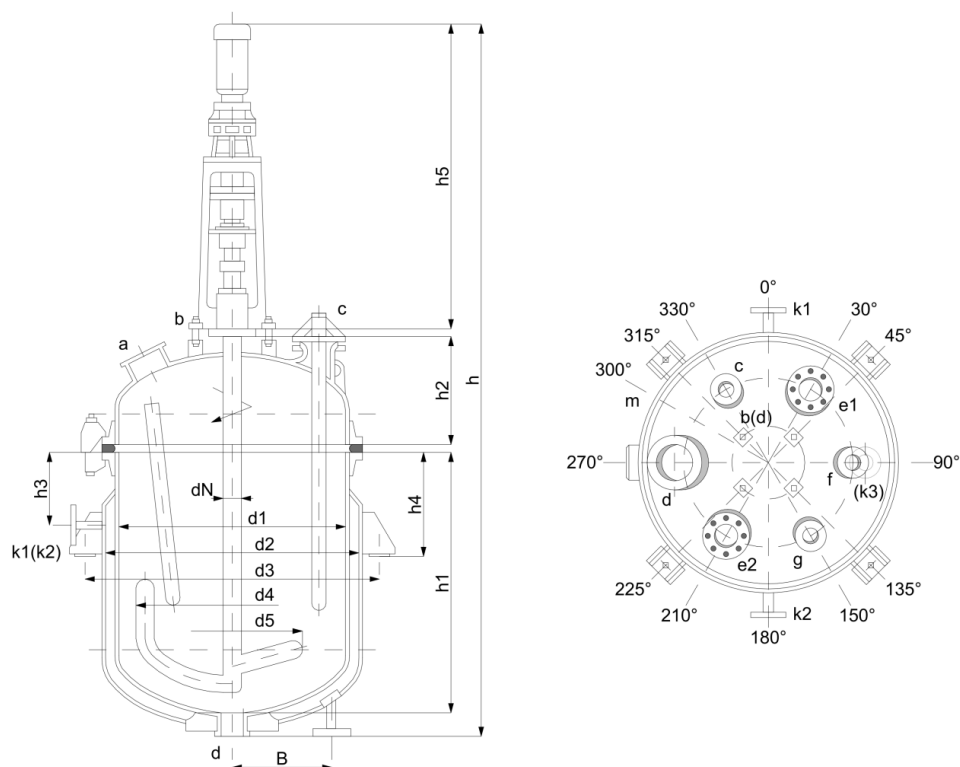


Рисунок 3.1 - Реактор для приготування розчину модель модель K500L:

a - люк, b – канал для введення розчину, c – гільза для термопари, d - канал для виведення розчину, e1, e2 – оглядове скло, f, g – патрубок, k1, k2, k3 – вхід/вихід теплоносія, m - вентиляційний отвір.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		46

3.3 Опис технологічного процесу

Технологічний процес виробництва лікарського засобу «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, по 1 флакону у пачці структуровано та представлено за стадіями.

Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва.

Приміщення виробничої дільниці, де проводять технологічний процес отримання назального розчину «Лаферобіон, 100000 МО/мл», згідно з правилами GMP відповідають критеріям класів чистоти: С та D, які регламентують допустимі кількості механічних часток та мікроорганізмів у повітрі робочої зони. У приміщеннях класу С проводяться основні операції – від приготування до отримання укупорених флаконів, а також допоміжні – готується технологічний одяг та персонал. Підготовка флаконів відбувається у приміщеннях класу D). Візуальний контроль укупорених флаконів на різні види браку, етикетування та упаковка в пачки проводяться в контрольованих приміщеннях, які не мають класифікації за класами чистоти. [27]

Підготовку вентиляційного повітря проводять на окремих дільницях через повітряні фільтри типу HEPA. Підготоване повітря контролюють на наявність механічних часток та мікроорганізмів згідно з Стандартними робочими процедурами (СРМ/СОП). (К 1.1.1)

Процедури підготовки приміщень та технологічного обладнання регламентовані у відповідних (СРМ), затверджених на виробництві.

За правилами GMP приміщення та обладнання забезпечують ідентифікаційними етикетками затвердженого на підприємстві зразка з позначенням номера та статусу обладнання. [27]

На підприємстві організовано контролювання підготовки (чистоти) обладнання (К 1.1.2), спеціального одягу (К 1.1.3), персоналу (рук/рукавичок) (К 1.1.4), у відповідних СРМ/СОП. Порядок підготовки та контролю, критерії контролю відповідають правилам та вимогам, регламентованим в Настанові з GMP. [27]

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		47

Стадія 2. Підготовка первинної упаковки

Мийка та стерилізація флаконів скляних місткістю 5 мл, які є первинною упаковкою для крапель назальних «Лаферобіон» здійснюється згідно затверджених Стандартних робочих процедур (СРМ).

Для миття використовують автоматичну лінію шприцевого миття флаконів з використанням ультразвука ГФ 9. Обладнання складається з систем подачі флаконів, ультразвукового миття, миття та ополіскування водою, обдуву стерильним повітрям, вивантаження підготованих флаконів, подача води та повітря. Контроль за роботою здійснюється автоматично.

Послідовність миття: водою очищеною - 2 цикла внутрішнього ополіскування та 1 зовнішнє ополіскування, 1 продувка стерильним повітрям, 1 внутрішнє ополіскування водою для ін'єкцій, продувка стерильним повітрям - 2 рази внутрішня, 1 раз зовнішня.

Сушать та стерилізують флакони в стерилізаційному тунелі СШ 10. Обладнання автоматично проводить подачу флаконів, нагрівання, витримку при температурі стерилізації, охолодження та вивантаження флаконів. Швидкість повітря: у зоні попереднього нагріву та охолодження 0,3-0,4 м/с, в зоні стерилізації 0,56-0,68 м/с. В зонах тунеля створюють надлишковий тиск.

Режим стерилізації: температура 335 °С, тривалість проходження зон стерилізації 2 год. (К 2.1.1)

Керування процесом автоматичне. Параметри фіксують в протоколі виготовлення серії, до якого прикладають всі діаграми та роздруківки.

Інспекція підготованих флаконів: стерильність, механічні вклучення. (К 2.1.2, К 2.1.3)

Стерилізовані флакони використовують на стадії 4. Наповнення та укупорка флаконів з розчином.

Стадія 3. Приготування та фільтрація розчину.

3.1. Вхідний контроль сировини.

Усі види сировини для отримання серії препарату обов'язково

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		48

контролюють перед використанням у виробництві. Передача сировини на дільницю можлива тільки після оформлення аналітичних листків вхідного контролю та письмового дозволу на використання для виробництва серії. Дозвіл дає Уповноважена особа. (К 3.1.1)

3.2. Зважування сировини.

Сировину зважують після проведення розрахунків фактичної маси для кожного компоненту розчину. В розрахунках беруть до уваги кількісний вміст та вміст води (втрату в масі при висушуванні). Розрахована фактична кількість інгредієнтів розчину на серію 400 л наведено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4 - Склад діючих та допоміжних речовин на серію 400 л

Найменування вихідної сировини	Од.виміру	Кількість на 400 л
Інтерферону альфа-2b розчин концентрований	кг	0,0002
Трометамол	кг	2,436
Трометамолу гідрохлорид	кг	0,202
Гіпромелоза	кг	0,842
Динатрію едетат	кг	0,041
Лізін гідрохлорид	кг	2,449
Калій хлорид	кг	1,632
Метилпарагідроксибензоат	кг	0,135

На вагах КП 5 в марковану ємність для зважування З 1 відважують підраховану кількість інтерферону альфа-2b розчину концентрованого - 0,0002 кг, в ємностях З 2 зважують 0,202 кг трометамолу гідрохлориду, 0,041 кг динатрію едетату, та 0,135 кг метилпарагідроксибензоату.

На вагах КП 4 в ємностях З 3 зважують 2,436 кг трометамолу, 0,842 кг гіпромелози, 2,449 кг лізину гідрохлориду, 1,632 кг калію хлориду (К 3.2.1).

На кожен збірник з наважкою прикріплюють ідентифікаційну етикетку з позначенням назви, серії, кількості сировини, дати та підпису апаратника. Зважену сировину використовують на операції 3.2. Приготування розчину Лаферобіону 100000 МО/мл. До протоколу серії додають етикетки (після використання сировини) та чеки від ваг.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						49
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3.3. Приготування розчину Лаферобіону по 100000 МО/мл.

Приготування розчину ведуть за вагою в реакторі Р 6. Перемішування здійснюється якірною мішалкою, підігрів та охолодження – подачею в сорочку пари або розсолу.

На дільницю поступає вода для ін'єкцій з температурою $(80 \pm 5)^\circ\text{C}$. Завантажують в реактор Р 6 воду для ін'єкцій - 392,063 кг. Воду охолоджують подачею розсолу в сорочку до $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$ при постійній роботі мішалки.

Через люк реактора додають наважку метилпарагідроксибензоату. Після розчинення охолоджують до $(40 \pm 5)^\circ\text{C}$ та завантажують динатрію едетат та калію хлорид. Охолодження продовжують до температури $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Одночасно при перемішуванні завантажують трометамол та трометамолу гідрохлорид, перемішують 10-15 хв. Потім додають лізину гідрохлорид. Після його розчинення завантажують наважку Інтерферону альфа-2b та перемішують ще 10-15 хв. Після повного розчинення додають в реактор гіпромелозу та перемішують 10-15 хв. (К 3.3.1)

Зупиняють мішалку та додають в реактор воду для ін'єкцій до ваги розчину 400,0 кг за показанням тензометричного датчика. Вмикають мішалку та перемішують 10-15 хв. (К 3.3.2).

Вимикають мішалку та відбирають пробу розчину для міжопераційного контролю. Контролюють зовнішній вигляд (прозорий безбарвний розчин), рН від 6,8 до 7,7, вміст метилпарагідроксибензоату (від 0,297 до 0,363 мг/мл) (К 3.3.3).

Розчин передають на фільтрацію після отримання результатів контролю, які відповідають специфікації міжопераційного контролю.

3.4. Фільтрація розчину.

Проконтрольований розчин фільтрують на установці для фільтрації Ф 7. Установка зібрана з двох фільтротримачів, закріплених на рамі послідовно, з насосом та засобами контролю тиску. Перед роботою проводять зарядку фільтрів патронами з рейтингом пір 0,45 мкм (на вході розчину) та 0,2 мкм

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

(основний фільтр). Оператор контролює маркування фільтрів та перевіряє їх герметичність, про що фіксує у протоколі. (К 3.4.1).

Фільтрують розчин Лаферобіону, приготований на операції 3.3, під тиском 0,15-0,20 МПа (К 3.4.2) в збірник фільтрованого розчину 3 8.

Визначають ефективність фільтрації через 15-20 хв після початку роботи та періодично протягом фільтрації. Критеріями оцінки якості проміжного продукту є відсутність механічних часток в розчині [28], прозорість та безбарвність, рівень рН від 6,8 до 7,7, вміст метилпарагідроксибензоату від 0,297 до 0,363 мг/мл,. Випробування проводять за методиками міжопераційного контролю (К 3.4.3).

Проконтрольований розчин насосом передають на стадію 4. Наповнення та герметизація флаконів з розчином.

Стадія 4. Наповнення та герметизація флаконів з розчином.

Первинна упаковка крапель назальних «Лаферобіон» - флакони темного скла місткістю 5 мл, підготовані на Стадії 2 Підготовка первинної упаковки.

Заповнюють флакони розчином та укупорюють мікродозаторами-крапельницями на обладнанні для наповнення і укупорки флаконів ГФ 11.

Оператор наповнення налагоджує дозу наповнення 5,15 мл. (К 4.1.1)

Отримують зі складу та перевіряють маркування на пакуванні мікродозаторів-крапельниць.

Флакони рухаються по транспортерній стрічці по напрямних, приходять на утримувачі флаконів, де голки дозаторів під тиском впускають налаштовану дозу розчину у флакон. Контролюють на операції періодично показник «об'єм, що витягається», за Методикою міжопераційного контролю (К 4.1.2). а також протягом наповнення оператор спостерігає за ходом наповнення. При появі флаконів з відхиленням від дози наповнення, їх збирають в контейнер з етикеткою «Брак наповнення». Наявність та кількість браку фіксують в протоколі серії та оформлюють актом.

Наповнені флакони просуваються до вузла нагвинчування

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
						51
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

мікродозаторів-крапельниць і укупорюються. Контролюють якість укупорювання (відсутність течі розчину, дефектів нагвинчування мікродозаторів) (К 4.1.3).

Виявлені флакони з дефектами укупорки відокремлюють в контейнер з етикеткою «Брак укупорки». Наявність та кількість браку фіксують в протоколі серії та оформлюють актом.

Укупорені флакони в контейнерах з етикеткою встановленого зразка направляють на стадію 5. «Маркування, пакування та відвантаження готового продукту». В протоколі фіксують назву проміжного продукту, дату та серію, кількість флаконів та дозу наповнення.

ПМВ 5 Маркування, пакування та відвантаження готового продукту

5.1. Перевірка на брак.

Флакони з розчином перевіряють на брак візуально (К 5.1.1).

Під час перегляду бракують флакони, де спостерігається відхилення об'єму, витікання розчину, дефекти укупорки та скла тощо

Флакони в касетах з етикетками встановленого зразка передають на етикетування та маркування. Виявлені флакони з браком збирають в контейнер з етикеткою «Брак». Наявність та кількість браку фіксують в протоколі серії та оформлюють актом.

5.2. Етикетування флаконів.

Наклеювання етикеток на флакони проводять за серіями на етикетувальному обладнанні для флаконів ГФ 12.

На початку процесу оператор перевіряє наявність етикетки «Підготоване до роботи», знімає її та прикладає до протоколу серії, прикріплює етикетку «В роботі». На пульті управління задається номер серії та термін придатності, якій наноситься на етикетку автоматично в процесі етикетування.

Оператор контролює правильність маркування та якість наклеювання етикетки (К 5.2.1).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		52

Етикетовані флакони в касетах з етикетками встановленого зразка поступають на пакування в пачки.

6.3. Пакування флаконів.

Вкладання флаконів в пачку проводять на автоматичній картонажній машині ГФ 13, де один флакон разом з інструкцією для медичного застосування пакують в пачку.

Оператор постійно слідкує за заповненням та закриттям клапанів пачок, відбирає неякісні упаковки, контролює комплектність, правильність маркування (К 5.3.1).

Пачки поміщають в групову тару - ящики з картону гофрованого, в які вкладають пакувальний лист. Ящики етикетують груповою етикеткою встановленого зразку. Оператор контролює ход упаковки та якість групового пакування за показниками Методики міжопераційного контролю (К 5.3.3).

Серія готової продукції відправляється на склад карантинного зберігання. Контролер ВКЯ відбирає середню пробу та ВКЯ контролює продукцію за всіма показниками МКЯ (К 6.3.4.). Регламентовану кількість зразків закладають в архів зразків. При отриманні сертифікату якості серії продукція переміщується на склад готової продукції та реалізацію.

Протоколи всіх стадій технологічного процесу з аналітичними листками вхідного контролю сировини, чеками, роздруківками приладів та діаграмами, етикетками обладнання та контейнерів складають дос'є серії, яке зберігається протягом терміну придатності на препарат.

3.4 Схеми виробництва (зі специфікацією обладнання)

На рис. 3.2 представлено технологічну схему виробництва препарату «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці

Примітка. Сірим кольором відзначені критичні стадії та критичні точки контролю у процесі виробництва.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		53

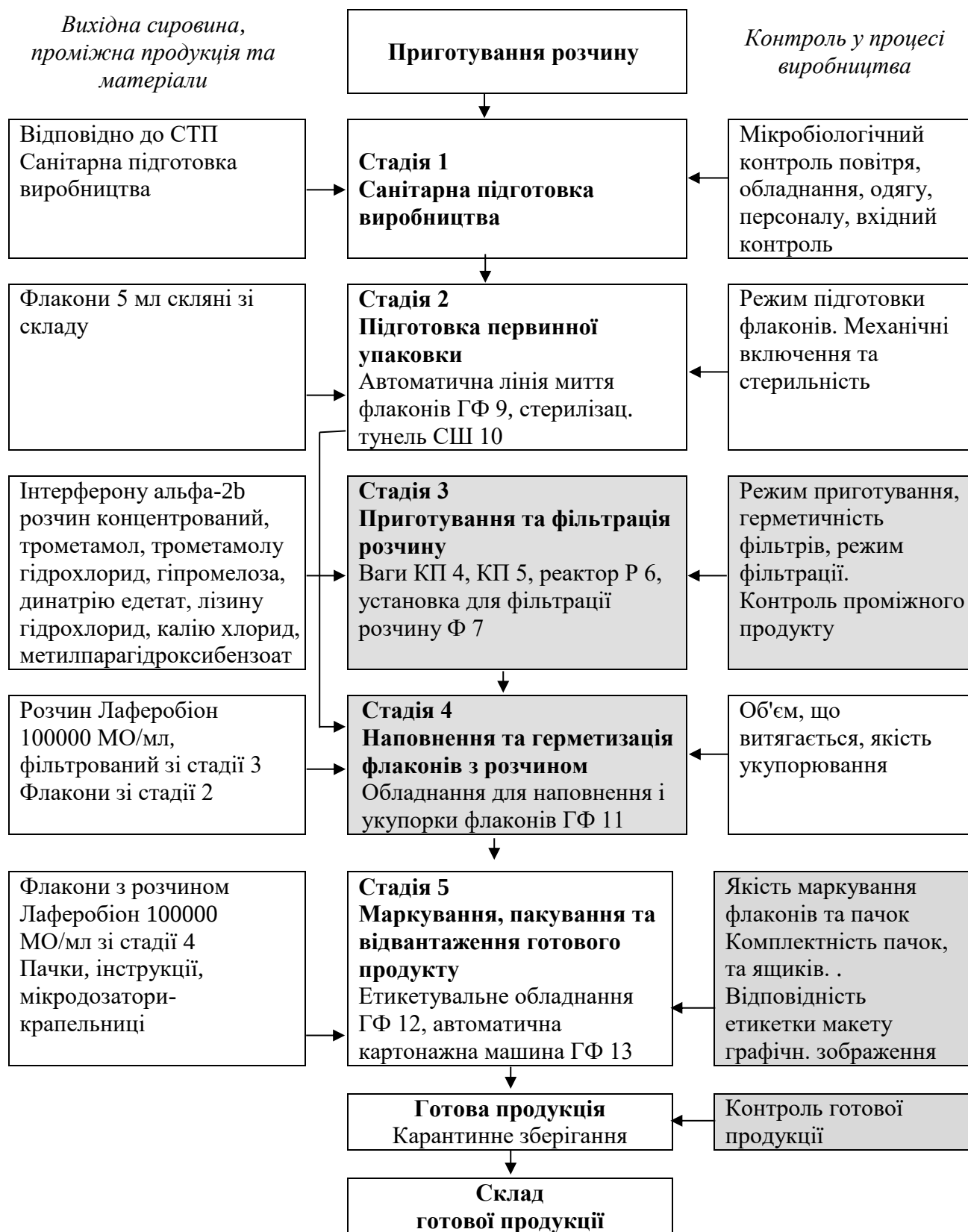


Рисунок 3.2 – Технологічна схема виробництва препарату «Лаферобіон, краплі назальні по 100000 МО/мл» по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці.

Апаратурну схему виробництва лікарського засобу «Лаферобіон, краплі назальні по 100000 МО/мл» по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці, наведено на рис. 3.3.

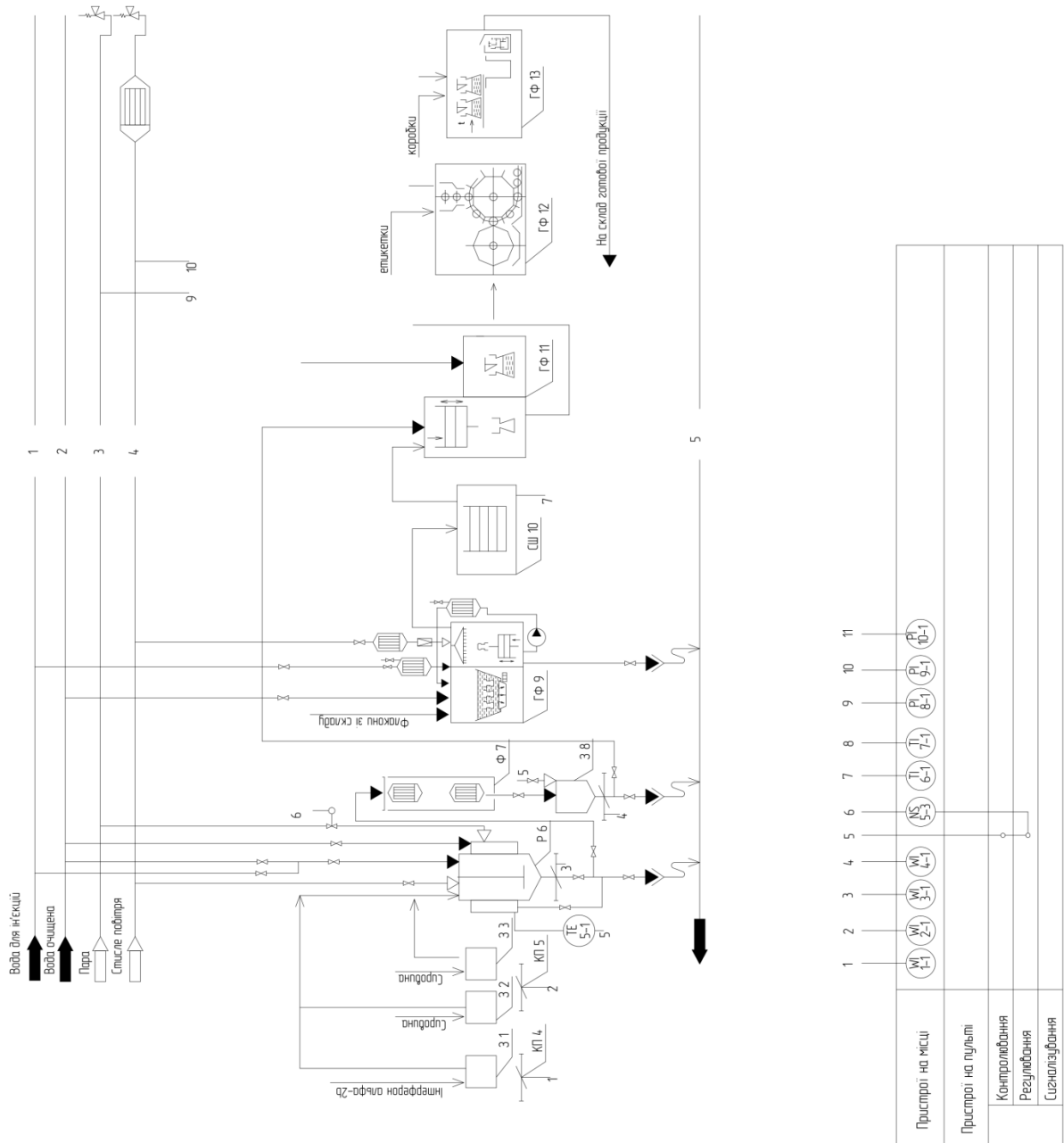


Рис. 3.3 – Апаратурна схема виробництва лікарського засобу «Лаферобіон, краплі назальні по 100000 МО/мл» по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці.

Специфікація обладнання виробничої ділянки отримання препарату «Лаферобіон, краплі назальні по 100000 МО/мл» по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці представлена у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Специфікація обладнання ділянки з виробництва лікарського засобу «Лаферобіон, краплі назальні по 100000 МО/мл» по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці

Поз.	Позначення	Найменування	Кільк.	Маса, кг	Примітка (матеріал)
1	2	3	4	5	6
3 1		Ємність для зважування. Стакан скляний. Місткість 50 мл	1		скло
3 2, 3 3		Ємність для зважування. Пластикові контейнери з кришкою. Ємність 0,5 л та 3 л.	7		пластик
КП 4	WALCO M LB3002	Лабораторні ваги. Макс. наважка 3100 г. Мін. вага, г 0,04. Мін поділка 0,01 г. Точність $\pm 0,1$ %. Габаритні розміри, мм: 660x470x320. Виробник: фірма «WALCOM», Китай.	1	2,2	н/сталь
КП 5	марка EP 613	Ваги електронні. Мін. поділка: 0,001 г. Макс. наважка: 610 г. Класс точності: II. 3 вітрезаксним корпусом. Виробник: «Ohaus», США.	1	0,3	н/сталь AISI 316L, (платформа)
Р 6	K500L	Реактор для приготування розчину. Вертикальний, з подвійною сорочкою, рамною мішалкою, еліптичною кришкою з затискачами, оглядовим та завантажувальним люками, штуцером для відбору проб, тензометричним датчиком.	1	1140	Н/сталь AISI 304

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
		Повний об'єм, л 734. Робочий, л 500. Рубашка, л 130. Мішалка 0,75 кВт, 0-335 об/хв. Завантаження - тиск, вивантаження – тиск, самоплив. Робочий тиск 0,4-1,0 МПа. Габарити: діаметр 1130 мм, висота 2985 мм. Виробник: ТОВ «ГК ЕВРОХІММАШ К.О.», Україна.			
Ф 7	УПФ.Р	Установка для фільтрації розчину. 1-5 фільтротримачів, h 750 мм, насос, пульт керування, матеріалопроводи, запірні арматури. Швидкість потоку до 3 м ³ /год. Тиск, МПа до 1,5. Потужність 1,4 кВт. Габаритні розміри, мм: 1750x850x1450. Виробник: «Технофільтр», Україна	1	110	Н/сталь AISI 304 (фільтро тримач)
З 8	СМ-450	Збірник фільтрованого розчину. Місткість, л 430 (загальна), 400 (робоча). Тиск, МПа до 0,25. Робочий діапазон, °С 0-90. Потужність 0,02 кВт. Вертикальний цільнозварний, з герметичною термоізоляційною сорочкою, чотири опори з колесами. Оснащений датчиком об'єму, мийною головкою, нижнім спуском, конденсатовідвідником, знімною мішалкою 0-1000 об/хв, тензометричним пристроєм. Габарити, мм: 1200x700x1980. Виробник: «Промвіт», Україна	1	172	сталь AISI 316 L (контакт на), сталь AISI 304 (не контактн а)
ГФ 9	QCL168	Автоматична лінія шприцевого миття флаконів з ультразвуком. ТЕНи, кВт 4,5. Підігрів води, °С 40-80. Швидкість миття контейнерів 1-20 мл, шт/год. 10000-43000. Витрати: вода при тску 0,2-0,3 МПа, м ³ /год 1,4; стиснене повітря при тиску 0,6 МПа, м ³ /год 70. Потужність, кВт 25. Габарити, мм: 2530x2850x1540. Виробник: фірма «Luxun International Group», Китай	1	3000	н/сталь AISI 304 AISI 316

Арк.

162.01.01.00 000 ПЗ

57

Змн. Арк. № докум. Підпис Дата

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5	6
СП 10	KSZ620/60	Стерилізаційний тунель. Стрічка шириною, мм 600. Зона I 40 °С, зона II - 335 °С, зона III - 20 °С. Швидкість проходження 6000-50000 фл./год. Потужність, кВт 67,85. Габарити, мм: 4200х1560х2340. Виробник: фірма «Luxun International Group», Китай	1	3800	н/сталь AISI 304 AISI 316
ГФ 11	AGF16/18	Обладнання наповнення та укупорки флаконів. Швидкість наповнення, фл./год 30000-46000. Витрати: газ при тиску 0,05 МПа, м. куб/год 0,8; кисень при тиску 0,3-0,5 МПа, м.куб/год 2,4. Потужність 2,6 кВт. Габарити, мм: 4150х1800х1380. Виробник: фірма «Luxun International Group», Китай	1	3400	н/сталь AISI 304
ГФ 12	ESA 1025	Етикетувальне обладнання для флаконів. Швидкість для фл. 5 мл, шт./год 25000. Потужність 3,1 кВт. Розміри етикетки, мм: 26-85, висота 13-45. Габарити, мм: 150х220х190. Виробник: фірма «BAUSCH+STRÖBEL», Німеччина	1	100	збірний
ГФ 13	DELTA-500	Автоматична картонажна машина. Швидкість пакування, пачок/хв. до 500. Повітря: тиск, МПа 0,5-0,7, витрата, л/хв 120-160. Потужність двигуна 0,75 кВт. Габарити, мм 2100х880х1800. Постачальник: фірма «ПромВіт», Україна.	1	1200	н/сталь 12Х18Н 9Т

3.5 Критичні параметри виробництва

Таблиця 3.6 – Контроль критичних стадій і проміжної продукції виробництва лікарського засобу «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці

Номер	Критичні точки (критичні стадії, операції)	Критичні параметри і критичні характеристики якості	Одиниця виміру	Критерій прийнятності
1	2	3	4	5
К 1.1.1	Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва	Підготовка виробничих приміщень класів С та D: -мікробна контамінація повітря робочої зони	КУО/м ³	C – ≤100 D – ≤ 200
	Те ж	- максимально-допустиме число часток в 1 м ³ повітря в оснащеному і функціонуючому стані	шт.	[27]
К 1.1.2	Те ж	Підготовка обладнання і інвентарю (класи С та D): - мікробіологічна контамінація поверхонь	КУО/м ³ /пластин а	C – ≤ 25 D – ≤ 50
К 1.1.3	Те ж	Підготовка технологічного одягу (класи С та D): - мікробіологічна контамінація	КУО/м ³ /пластин а	C – ≤ 25 D – ≤ 50
К 1.1.4		Підготовка персоналу (класи С та D): - мікробіологічна контамінація рук (рукавичок) персоналу	КУО/м ³ /рукавичка	C – не нормується D – не нормується
К 2.1.1	Стадія 2. Підготовка первинної упаковки	Режим миття і стерилізації флаконів		Відповідно до ТД
К 2.1.2	Те ж	Стерильність флаконів		Стерильні
К 2.1.3	Те ж	Механічні вклучення в змивах з внутрішніх поверхонь флаконів		Відсутність

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5
К 3.1.1	Стадія 3. Приготування та фільтрація розчину 3.1 Вхідний контроль сировини	Вхідний контроль сировини: - перевірка ідентичності сировинних матеріалів; - цілісність упаковки - вхідний контроль сировини		Вся сировина за всіма показниками НТД
К 3.2.1	3.2. Зважування сировини	Контроль маси наважок сировини: - інтерферону альфа-2b розчину концентр. - трометамолу гідрохлориду - динатрію едетату - метилпарагідроксибензоату - трометамолу - гіпромелози - лізину гідрохлориду - калію хлориду	кг	0,0002 0,202 0,041 0,135 2,436 0,842 2,449 1,632
К 3.3.1	3.3. Приготування розчину Лаферобіону по 100000 МО/мл.	Режим приготування: <i>Завантаження води очищеної:</i> - маса - температура <i>Розчинення метилпарагідроксибензоату:</i> - температура - тривалість перемішування <i>Розчинення динатрію едетату, калію хлориду:</i> - температура - тривалість перемішування <i>Розчинення трометамолу та трометамолу гідрохлориду</i> - температура - тривалість перемішування <i>Розчинення лізину гідрохлориду</i> - тривалість перемішування <i>Змішування з Інтерфероном альфа-2b:</i> - тривалість перемішування <i>Розчинення гіпромелози:</i> - тривалість перемішування	кг °C °C хв °C хв °C хв хв хв хв	392,063 80±5 60±5 7-10 40±5 °C 7-10 20±5 °C 10-15 5-7 10-15 10-15

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5
К 3.3.2	Те ж	Режим доведення маси до необхідної: - температура - маса - тривалість перемішування	°C кг хв	20±5 400 10-15
К 3.3.3	Те ж	Контроль проміжного продукту: - зовнішній вигляд - рН - кількісний вміст метилпарагідроксибензоату	мг/мл	Прозорий безбарвний розчин 6,8-7,7 від 0,297 до 0,363
К 3.4.1	3.4. Фільтрація розчину	Цілісність фільтрів Рейтинг пір (маркування)	мкм	Витримує тест 0,45; 0,2
К 3.4.2	Те ж	Тиск при фільтрації	МПа	0,15-0,20
К 3.4.3	Те ж	Контроль проміжного продукту: - прозорість - кольоровість - рН - кількісний вміст метилпарагідроксибензоату - механічні включення	мг/мл	Прозорий Безбарвний 6,8-7,7 від 0,297 до 0,363 Відсутність
К 4.1.1	Стадія 4. Наповнення та герметизація флаконів з розчином	Об'єм наповнення, мл	мл	5,15
К 4.1.2	Те ж	Об'єм, що витягається	мл	Не менше 5,0
К 4.1.3	Те ж	Якість закупорювання флаконів		Відсутність течі розчину, проколів крапельниць
	ПМВ 5 Маркування, пакування та відвантаження готового продукту			
К 5.1.1	5.1. Перевірка на брак	Контроль проміжного продукту: - якість закупорювання		Відсутність дефектів укупорки

Продовження таблиці 3.6

1	2	3	4	5
		- герметичність - об'єм (візуально)		флаконів з відхиленням об'єму, протіканням
К 5.2.1.	5.2. Маркування флаконів	Якість етикетування: - відповідність етикетки графічному макету, наведеному в МКЯ - правильність номера серії та терміну придатності, - якість наклеювання етикетки		Відповідає Відповідає Відсутні дефекти
К 5.3.1	5.3. Пакування флаконів	Якість упаковки в пачки		Відсутність дефектів пачок, по 1 флакону та інструкція в кожній пачці, правильність номера серії і строку придатності
К 5.3.2		Якість групової упаковки		Відсутність дефектів коробок, відпов. номеру серії та терміну придатності на груповій етикетці, кількість коробок в ящиках відпов. НД
К 5.3.3		Контроль готової продукції: «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором- крапельницею, по 1 флакону у пачці		Відповідність всіх показників вимогам МКЯ

3.6 Екологічні аспекти виробництва

Екологічний моніторинг відходів фармацевтичних підприємств є важливим засобом забезпечення стійких та екологічно прийнятних виробничих процесів.

Останні десятиліття міжнародна спільнота та представники фармацевтичної галузі все частіше наголошують на проблемі своєчасної утилізації відходів фармацевтичних підприємств, недопущення їх потрапляння у довкілля. Ця проблема стає глобальною. Європейський парламент оприлюднив регламент (EU) 2022/1307, що містить перелік фармацевтичних продуктів, які мають підлягати контролю у стічних водах та водоймах, визначив методи їх моніторингу. [29]

Фахівці встановили складові екомоніторингу для фармпідприємств:

- Аналіз якості стічних вод, моніторинг джерел їх утворення та скидів води з метою попередження забрудненню водойм й захисту водних організмів;
- Управління хімічними і біологічними відходами: належна їх утилізація для забезпечення збереження екосистем;
- Застосування заходів енергозбереження;
- Запобігання утворенню парникових газів;
- Охорона флори та фауни природних середовищ та збереження різноманіття їхніх представників в районах виробничих об'єктів;
- Фактична реалізація вимог та дотримання критеріїв екологічних нормативних документів;
- Впровадження технологій та сировини, безпечних для довкілля;
- Моніторинг екологічного впливу продуктів фармацевтичної галузі від їх розробки, через отримання та реалізацію до споживання або знешкодження. [29, 30]

Найбільший вплив на довкілля фармацевтична промисловість надає під час виробничих процесів. Для цих процесів зазвичай характерно утворення

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63

та потрапляння у стічні води мікрозабруднювачів - речовин, кількості яких невеликі, слідові. Як правило, це залишки препаратів і мікропластик.

Окрім того, що такі забруднювачі можуть бути у стічних водах виробничого процесу, вони потрапляють у поверхневі води із фізіологічними виділеннями людини і тварин, а також при недбалому поводженні з ними, що впливає на безпеку споживання питної води. [29, 30]

Для моніторингу забруднень фармацевтичного походження використовують високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ). Наприклад, фірма «Thermo Scientific» виконує паралельне контролювання слідових кількостей АФІ та засобів особистої гігієни з чутливістю до нг/л методами твердофазної екстракції і сумісної хромато-маспектрометрії з рідинною хроматографією (ВЕРХ-МС/МС). [29]

Джерела походження часток мікропластику (частки < 5 мм) [29, 30]:

- **пластикове пакування.** Первинна то вторинна упаковка фармацевтичних препаратів набуває все більшого поширення: блістери, контейнери, ампули, шприц-тубики, крапельниці тощо. Мікропластик може утворюватися під час виробництва й утилізації цих пакувальних матеріалів;
- **пластикові елементи у складі препаратів.** Пластикові мікрочастинки використовуються в деяких фармацевтичних і косметичних засобах як ексфоліанти або таргетні системи доставки. Після застосування і змивання цих продуктів мікрочастинки потрапляють в каналізацію;
- **стічні води виробничих дільниць.** У процесах виробництва використовують пластикові обладнання й матеріали. Знос цього обладнання обумовлює потрапляння мікрочасток пластиків у стічні води.

Компанія «HORIBA» використовує метод Раман-мікроскопії для визначення кількостей мікропластику, його типів і походження. [29]

Отже, контролювання впливу фармацевтичних компаній на довкілля, особливо на якість поверхневих вод, вимагає уваги та сучасних рішень.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		64

4 ЕКОНОМІЧНА ЧАСТИНА

1. Точна назва підрозділу – місця проходження практики.

ТОВ «ФЗ «БІОФАРМА», м. Біла Церква, Київська обл., Україна.

2. Назва продукції, що виготовляється підрозділом.

Лікарський засіб «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці з картону.

3. Виробнича потужність підрозділу.

Встановлюється по провідному устаткуванню. Машина для наповнення та герметизації флаконів. Продуктивність по флаконам 5 мл - 38000 фл./год.

4. Обсяг виробництва певної продукції за звітний рік у натуральному та вартісному вираженні.

Об'єм серії – 400 л, 72 000 фл., 72 тис. уп. Кількість серій на рік – 6.

Таблиця 4.1 - Баланс часу роботи обладнання

Фонд часу роботи обладнання	Мовні позначки	Показники	
		Дні	Години
Календарний	Φ_K	365	8760
Неробочий час:			
А) вихідні дні	$\Phi_{\text{вих}}$	140	3360
Б) святкові дні	$\Phi_{\text{свят}}$		
Номінальний	Φ_H	225	5400
Зупинки:			
А) на ремонт	$\Phi_{\text{рем}}$	37	888
Б) з технологічних причин	$\Phi_{\text{тех}}$	30	720
Ефективний	Φ_e	158	3792

Виробнича потужність цеху:

$$ВП = 1 \times 320 \times 3792 = 1213440 \text{ од.}$$

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		65

Питома вага даного препарату:

$$A=72000/1213440*100= 5,93 \%$$

За даними розрахунку, потужність цеху достатня для запланованого обсягу виробництва препаратів усього цеху.

Вартість будівель та споруд приймається на рівні первинної вартості.

Вартість обладнання розраховується на основі специфікації, складеної при його виборі, та діючих оптових цін (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 - Специфікація та вартість обладнання

№ п/п	Найменування обладнання	Кількість одиниць обладнання, шт.	Вартість одиниць обладнання, тис. грн
1	Ваги ВПД304ДЛ	1	2,600
2	Ваги електронні 610 г	1	4,500
3	Реактор*	1	700,500
4	Установка для фільтрації розчину	1	120,000
5	Збірник фільтрованого розчину	1	220,000
6	Автоматична лінія шприцевого миття флаконів з ультразвуком	1	550,000
7	Стерилізаційний тунель	1	653,000
8	Машина наповнення та укупорки флаконів	1	1320,000
9	Етикетувальна машина	1	230,000
10	Автомат для упаковки флаконів в пачку	1	420,000
11	Усього		4220600

* замінне обладнання.

Раніше для отримання серії препарату використовували реактор робочим об'ємом 200 л. Серія формується з одного завантаження реактору.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		66

В роботі пропонується замінити застарілий реактор, який має недостатній об'єм, на сучасний реактор вдвічі більшого об'єму, що дозволить:

- збільшити кількість готового продукту вдвічі, використовуючи решту обладнання, яке є на ділянці,
- зменшити кількість днів простою з-за проведення ремонтних робіт застарілого апарату (було до 20 днів, стало 12),
- зменшити кількість допоміжного персоналу (замість 2 налагоджувальників можна залишити одного)
- при цьому через енергоємність нового реактору енерговитрати збільшаться незначно

При визначенні підсумкової вартості основного обладнання необхідно врахувати і вартість неврахованого обладнання, яке складає 20% від вартості основного обладнання. Результати розрахунку вартості обладнання і вартості будинків і споруд наведені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3 - Підсумкова вартість основних засобів

№	Найменування статті	Вартість обладнання,грн	Пояснення
1	2	3	4
1.	Вартість основного обладнання	4220600	Табл.,2
1.1	В т.ч реактор	700,500	Табл.,2
2.0	Невраховане обладнання	844120	20% від стр.1
2.1	В т. ч реактор	140100	20% від стр.1.1
3	Всього	5064720	Стр.1 + стр. 2
3.1	В т.ч реактор	840600	Стр. 1.1+стр.2.1
4.0	Будівлі і споруди	6354700	
5.0	Всього	11419420,0	стр. 3 + стр. 4

Таким чином, вартість основних засобів після переоснащення цеху складає 11419420,0 грн., в т.ч. вартість нового обладнання -840600,0 грн. Зміна вартості основних засобів після переоснащення наведена у табл. 4.4.

Таблиця 4.4 - Розрахунок зміни вартості основних засобів після переоснащення

№	Об'єкт	Вартість, грн		Приріст, грн
		за даними підприємства	за даними проєкта	
1	2	3	4	5
1	Будівлі і споруди	63547000	63547000	0
2	Обладнання	4224120	5064720	+840600
3	Всього	67771120	68611720	+840600

Для розрахунку фонду оплати праці необхідно розрахувати баланс робочого часу робітника (табл. 4.5.)

Таблиця 4.5 - Баланс робочого часу робітника

Витрата часу	Умовні позначення	Показники	
		Дні	Години
1	2	3	4
Календарний фонд робочого часу	Φ_K	365	2920
Кількість вихідних днів	$\Phi_{\text{вих}}$	99	792
Кількість святкових днів	$\Phi_{\text{свят}}$	8	64
Кількість неробочих днів	$\Phi_{\text{н.р}}$	107	856
Номінальний фонд робочого часу	Φ_n	258	2064
Невиходи, які плануються	$\Phi_{\text{нев}}$	34	272
Тарифні відпустки	$\Phi_{\text{отп}}$	24	192
Хвороби	$\Phi_{\text{хв}}$	8	64
Декретні відпуски	$\Phi_{\text{відп}}$	0	0

1	2	3	4
Інші невиходи із дозволу адміністрації	Ф _{др}	2	16
Кількість робочих днів		224	1792
Кількість передсвяткових днів, в які тривалість робочого дня зменшується на одну годину		8	8
Ефективний фонд робочого часу	Ф _е	224	1784

Розрахунок фонду оплати праці робітників цеху.

Основна заробітна плата розраховується з урахуванням кількості робітників, ефективного фонду робочого часу одного робітника та його ставки (табл. 4.6). Додаткова заробітна плата складає 20 % фонду основної заробітної плати.

Таблиця 4.6 - Розрахунок чисельності і заробітної плати основних і допоміжних робітників

Професія	Кількість робітників	Розрахунок тарифної ставки, грн.		Розрахунок фонду оплати праці, грн		
		За год.	За зміну	Основна заробітна плата	Додаткова заробітна плата	Фонд оплати праці
1	2	3	4	5	6	7
1 Основні робітники:						
1.1. Апаратник приготування розчинів	6	46,5	2232,00	497736,00	99547,20	597283,20

Продовження таблиці 4.6

1	2	3	4	5	6	7
1.2. Апаратник фільтрування	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.3. Оператор наповнення та герметизації	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.4. Стерилізаторник	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.5. Оператор інспекційної машини	6	46,5	2232,00	497736,00	99547,20	597283,20
1.6. Оператор маркування	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.7. Оператор пакування	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.8. Мойщик флаконів	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
1.9. Майстер зміни	3	57,15	1371,60	305868,80	61173,36	367040,16
Разом	21			2794548,8	558909,60	3353457,60
2. Допоміжні робітники:						
2.1 Прибиральник	3	36,11	866,64	193260,72	38652,14	231912,86
2.2 Вантажник	3	43,7	1048,8	233882,40	46776,48	280658,88
2.3 Слюсар КВПіА	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
2.4. Слюсар- налагоджувальник	3	46,5	1116,00	248868,00	49773,60	298641,60
Разом	12			924879,12	184975,82	1109854,92

Собівартість лікарського засобу розраховується з урахуванням положень П(с)БО 16 на основі попередніх розрахунків. Розрахунок собівартості наведено в табл. 4.7 та 4.8.

Таблиця 4.7 - Розрахунок собівартості

Найменування матеріалу	Од.ви міру	Норма витрат на 1 серію (72000 фл/уп)	Ціна за одиницю, грн	Сума,грн
Сировина та основні матеріали				
Інтерферону альфа-2b розчин концентров.	Кг	0,200	269000,00	53800,00
Трометамол	Кг	2,436	24000,00	58464,00
Трометамолу гідрохлорид	Кг	0,202	17000,00	3434,00
Гіпромелоза	Кг	0,842	3023,00	2545,37
Динатрію едетат	Кг	0,041	1110,00	45,51
Лізін гідрохлорид	Кг	2,449	8370,00	20498,13
Калій хлорид	Кг	1,632	1540,00	2513,28
Метилпарагідроксибензоат	Кг	0,135	3050,00	411,75
Всього				141712,04
Допоміжні матеріали				
Флакони 5 мл	Шт	76250	0,5	38125,00
Мікродозатори-крапельниці	Шт	75500	0,5	37750,00
Етикетки	Шт	74900	0,1	7490,00
Інструкції	Шт	74900	0,1	7490,00
Коробки	Шт	74900	0,5	37450,00
Всього	шт			128305,00

Проектна калькуляція собівартості лікарського засобу. Найменування виробу - «Лаферобіон», краплі назальні по 100000 МО/мл; по 5 мл у флаконі, закупореному мікродозатором-крапельницею, по 1 флакону у пачці з картоном.

Таблиця 4.8 - Калькуляційна одиниця – 1000 упаковок

№ п/п	Статті витрат	Сума, грн
1	2	3
1	Сировина та основні матеріали	1968,22
2	Допоміжні матеріали	1700,00
3	Транспортно-заготівельні витрати	183,41
	Всього	3851,63
4	Заробітна плата	2019.85
4.1	Основна заробітна плата	1517.59
4.2	Додаткова заробітна плата	502.26
5	Відрахування на соціальні заходи	464.57
6	Загальновиробничі витрати	3793.98
7	Виробнича собівартість	10130,03
8	Адміністративні витрати	3338.70
9	Витрати на збут	531.16
10	Інші операційні витрати	986.43
11	Повна собівартість	14986,32
12	Договірна ціна	18230,00
1	Рентабельність, %	21,64

Порівняльний аналіз собівартості продукції за даними підприємства та проектом наведений у табл. 4.9.

Таблиця 4.9 - Аналіз зміни собівартості лікарського засобу

Статті витрат	За даними підприємства	За даними проекту	Зміна
1. Сировина і матеріали	2001,82	1968,22	-33,6
2. Допоміжні матеріали	1700,00	1700,00	-
3. Транспортно-заготівельні витрати	185,09	183,41	-1,68
4. Основна і додаткова заробітна плата	2406,80	2019,85	-386,95
5. Відрахування на заробітну плату	553,56	464,57	-88,99
6. Загальновиробничі витрати	4000,00	3793,98	-206,02
7. Виробнича собівартість	10847,27	10130,03	-717,24
8. Адміністративні витрати	3520,00	3338,70	-181,30
9. Витрати на збут	560,00	531,16	-28,84
10 Інші	1040,00	986,43	-53,57
10. Повна собівартість	15967,27	14986,32	-980,95

У результаті переоснащення виробництва знизиться виробнича собівартість на 717,24 грн., повна собівартість – на 980,95 грн.

Прибуток після реалізації заходу (переоснащення цеху) складе: $(3243,68 - 2262,73) \times 72 = 70268,40$ грн

Продуктивність праці дорівнює:

$$B_{\pi} = 18230 \times 72 / 36 = 36460,00 \text{ грн./чол.}$$

$$B_c = 18230 \times 72 / 33 = 39774,54 \text{ грн/чол.}$$

Строк окупності дорівнює:

$$T = 840600 \times 5,93\% / 70268,40 = 0,71 \text{ року}$$

Чистий приведений дохід:

$$NPV = 70628,4 - 840600 \times 5,93\% = 20780,82 \text{ грн.}$$

Основні техніко-економічних показники проектного об'єкту наведені в табл. 4.10.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		73

Таблиця 4.10 - Основні техніко-економічні показники проектного об'єкту

№ з/п	Показники	Од. вим.	Діюче виробництво	Проектоване виробництво
1	Річний випуск	тис. уп.	72	72
2	Капітальні витрати, пов'язані з впровадженням техніко-економічних заходів з урахуванням частки препарату	грн	-	49847,58
6	Кількість працюючих:	чол.	36	33
7	- основні робітники	чол.	23	21
8	- допоміжні робітники	чол.	13	12
9	Продуктивність праці	грн/чол.	36460,00	39774,54
10	Повна собівартість препарату	грн/тис. уп	15967,27	14986,32
11	Ціна відпускна	грн/тис. уп.	18230,00	18230,00
12	Прибуток	грн/тис. уп.	2262,73	3243,68
13	Рентабельність препарату	%	14,17	21,64
14	Чистий приведений ефект	грн	-	20780,82
15	Строк окупності проєктованих заходів	рік	-	0,71

Техніко-економічні розрахунки переоснащення виробництва крапель назальних «Лаферобіон», свідчать, що:

- чистий приведений ефект становить 20780,82 грн.;
- впровадженні техніко-економічні заходи окупаються через 0,71 року;
- продуктивність праці підвищиться на 3314,54 грн./чол.;
- рентабельність препарату підвищиться на 7,47 %.

Згідно цих даних та маркетингових досліджень виробництво «Лаферобіон», є економічно вигідним.

ВИСНОВОК

1. Проаналізовано ринок противірусних засобів, в тому числі групи інтерферонів.
2. Проведено огляд застосування інтерферонів як противірусних препаратів, механізмів їх дії. Встановлено, що інтерферони відіграють важливу роль у противірусній терапії, мають широке застосування в медицині та використовуються для лікування різних вірусних інфекцій.
3. Визначено основних продуцентів рекомбінантних інтерферонів. Описано біологічні властивості продуцента *E. coli* SX50, методи та умови його культивування. Визначено оптимальні умови для максимального виходу та активності інтерферону.
4. Досліджено особливості технологічного процесу отримання інтерферону альфа-2b біосинтетичним способом.
5. Проаналізовано склад крапель назальних з інтерфероном альфа-2b, основні фізико-хімічні та біологічні характеристики АФІ, склад, призначення та властивості допоміжних речовин, показники якості готового препарату.
6. Розроблено технологічну та апаратурну схеми виробництва.
7. Проаналізоване технологічне обладнання та проведені технологічні розрахунки.
8. З урахуванням ринкових пропозицій було обґрунтовано введення нового реактора для приготування розчину в апаратурний комплекс виробничого процесу.
9. Проведені техніко-економічні розрахунки підтвердили раціональність удосконалення виробництва та продемонстрували, що техніко-економічні заходи окупляться за 0,71 року. При цьому продуктивність праці досягне 39774,54 грн/чол., рентабельність продукції збільшиться на 7,47%, а чистий приведений дохід становитиме 20780,82 грн.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		75

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дзюблик І. В. Інтерферони: природа, механізми дії та клінічне застосування препаратів інтерферону. *Здоров'я дитини*. 2016. № 5(73). С. 79–84. DOI: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0551.5.73.2016.78306> (дата звернення: 09.02.2024).
2. Бекетова Г. В. Інтерферони з позицій доказової медицини: можливості застосування у профілактиці та лікуванні респіраторних захворювань. *Український медичний часопис*. 2023. № 6(158). С. 63–66. DOI: [10.32471/umj.1680-3051.158.249974](https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.158.249974) (дата звернення: 09.02.2024).
3. Марушко Ю. В., Голубовська Ю. Є., Марушко Є. Ю. Застосування рекомбінантного інтерферону альфа-2b у педіатричній практиці. *Здоров'я дитини*. 2016. № 2(70). С. 81–86.
4. Назальне введення. *Вікіпедія*. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B0%D0%B7%D0%B0%D0%B%D1%8C%D0%BD%D0%B5_%D0%B2%D0%B2%D0%B5%D0%B4%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F (дата звернення: 09.02.2024).
5. Human Type I Interferon Antiviral Effects in Respiratory and Reemerging Viral Infections / P. L. Acosta et al. *J. Immunol. Res.* 2020. P. 1372494. DOI: [10.1155/2020/1372494](https://doi.org/10.1155/2020/1372494) (Date of access: 02.04.2024).
6. Lazear H. M, Schoggins J. W., Diamond M. S. Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*. 2019. Vol. 50(4). P. 907–923. DOI: [10.1016/j.immuni.2019.03.025](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.025). (Date of access: 02.02.2024).
7. Interferons (IFNs): types, mode of action and effects. *Online biology notes*. URL: <https://www.onlinebiologynotes.com/interferons-ifns-types-mode-of-action-and-effects/> (Date of access: 02.12.2023).
8. Беш Л. В. Оцінка ефективності препаратів інтерферону в лікуванні гострих респіраторних вірусних інфекцій у дітей, які часто хворіють. *Здоров'я дитини*. 2015. № 2(61). С. 32–36. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/41044> (дата звернення: 09.02.2024).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		76

9. Беш Л. В., Мацюра О. І. Лікування гострих респіраторних вірусних інфекцій у дітей, які часто хворіють: прості відповіді на складні запитання. *Здоров'я України*. 2012. № 4. С. 51–52. URL: https://health-ua.com/pics/pdf/ZU_2012_Pediatr_4/50-51 (дата звернення: 09.02.2024).
10. Генно–інженерний метод отримання інтерферонів. Бібліотека біологічних дисциплін. URL: https://lifelib.info/microbiology/biotechnology_1/94 (дата звернення: 09.02.2024).
11. Strategies for the Production of Soluble Interferon–Alpha Consensus and Potential Application in Arboviruses and SARS-CoV-2 / F. Grabarz et al. *Life*. 2021. Vol. 11(6). P. 460. DOI: 10.3390/life11060460 (Date of access: 30.04.2024).
12. Interferon–Based Biopharmaceuticals: Overview on the Production, Purification, and Formulation / L. S. Castro et al. *Vaccines (Basel)*. 2021. Vol. 9(4). P. 328. DOI: 10.3390/vaccines9040328 (Date of access: 30.04.2024).
13. Спосіб одержання інтерферону альфа–2b людини : пат. 93371 Україна. № а 200711808 ; заявл. 25.10.07 ; опубл. 10.02.11, Бюл. № 3.
14. Боднар О. В., Скроцька О. І. Мікроорганізми як продуценти інтерферонів І та ІІ типу: сучасний стан досліджень. *Наукові праці НУХТ*. 2019. Т. 25, № 5. С. 31–47. DOI: 10.24263/2225-2924-2019-25-5-5 (дата звернення: 09.02.2024).
15. Engineering Chlamydomonas reinhardtii for Expression of Functionally Active Human Interferon- α / Y. El–Ayouty et al. *Mol. Biotechnol.* 2019. Vol. 61(2). P. 134–144. DOI: 10.1007/s12033-018-0143-y (Date of access: 30.04.2024).
16. Рекombінантні білки терапевтичного призначення: особливості отримання, вивчення безпечності та ефективності (літературний огляд) / Я. О. Нечаєва та ін. *Вісник Запорізького національного університету*. 2017. № 2. С. 85–93.
17. Виробництво рекombінантних інтерферонів. *Studfiles*. URL: <https://studfile.net/preview/9761424/page:14/> (дата звернення: 09.02.2024).

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		77

18. Fernández–Martori M, Bello–Rivero I, Duncan-Roberts Y. Treatment of Basal Cell Carcinoma with Interferons Alpha-2b and Gamma in Primary Care. *MEDICC Rev.* 2018. Vol. 20(1). P. 11–17. DOI: 10.37757/MR2018.V20.N1.4 (Date of access: 16.03.2024).
19. Treatment of basal cell carcinoma with surgical excision and perilesional interferon- α / R. Wettstein et al. *Journal of Plastic, Reconstructive Aesthetic Surgery.* 2013. Vol. 66, № 7. P. 912–916. DOI: 10.1016/j.bjps.2013.03.008. (Date of access: 16.03.2024).
20. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlz1?opendocument&stypе=9B2394CD9F9CA998C2258A0100424957> (дата звернення: 30.04.2024).
21. Компендіум. Лікарські препарати України. URL: <https://compendium.com.ua/uk/> (дата звернення: 09.02.2024).
22. Державна Фармакопея України : в 3 т. 2–ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
23. European Pharmacopoeia. 9–th ed. Strasbourg : EDQM. Council of Europe, 2016. 4016 p.
24. Державна Фармакопея України. Доповнення 2. 2–ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.
25. Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною : Наказ МОЗ України від 12.05.2010 р. № 400. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0452-10> (дата звернення: 30.04.2024).
26. Традиційні шляхи отримання інтерферонів. Бібліотека біологічних дисциплін. URL: https://lifelib.info/microbiology/biotechnology_1/93 (дата звернення: 09.02.2024).
27. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2020. Чинний від 2020-05-04. Київ : МОЗУ, 2020. 356 с.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		78

- 28.Державна Фармакопея України : в 3 т. 2–ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
- 29.Кіріна І. Вплив діяльності фармацевтичних підприємств на навколишнє середовище та моніторинг поверхневих вод від компанії «ХІМЛАБОРРЕАКТИВ». *Фармацевтична галузь*. 2023. № 5(98). С. 42–45.
- 30.Екологічна біотехнологія : навч. посіб. : у 2 кн. / О. В. Швед та ін. Львів : Вид–во Львів. політехніка, 2018. Т. 1. 424 с.
- 31.ДСТУ ГОСТ 2.612:2014. Єдина система конструкторської документації. Електронний формуляр. Загальні вимоги. (ГОСТ 2.612-2011, IDT). Офіц. вид. Вперше ; чинний від 2014-11-01. Київ : Мінекономрозвитку України, 2014. 47 с.
- 32.Методичні рекомендації до виконання кваліфікаційної роботи бакалавра для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» ОП «Біотехнологія» / О. С. Калюжная та ін. Харків : НФаУ, 2024. 128 с.

					162.01.01.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		79

ДОДАТКИ

Емальований реактор K500L

Модель	K500
Номинальний об'єм (л)	500
Загальний об'єм (л)	734
Розрахунковий об'єм (л)	588
Об'єм рубашки (л)	130
Поверхня теплообігу (кв.м.)	2,4
Вага обладнання (кг)	1140

*Одиниця виміру: мм

Умовні позначення

d1	900
d2	1000
d3	1130
d4	810
d5	500
h1	1000
h2	415
h3	280
h4	400
h	2985
B	270
Φ	23

*Одиниця виміру: мм

Умовні позначення

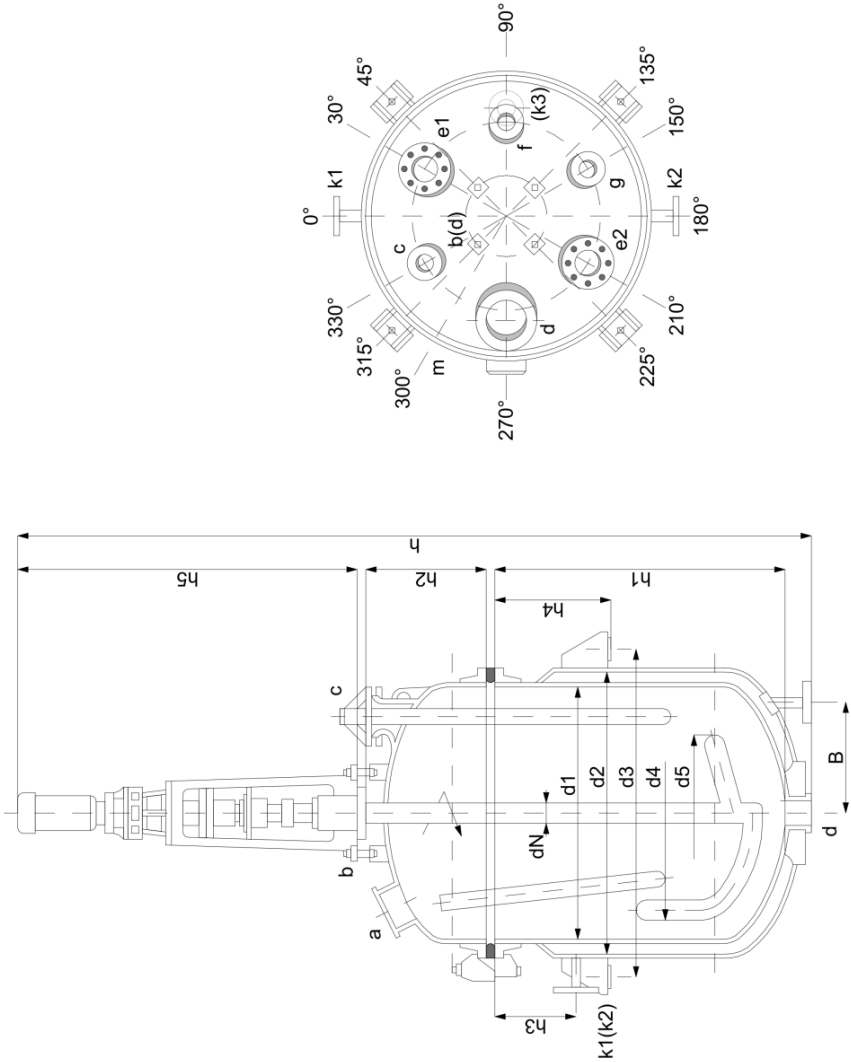
Знак	Значення знаку
a	Люк
b	Канал для введення розчину
c	Гільза для термометра
d	Канал для виводу розчину
e1, e2	Оглядове скло
f, g	Патрубок
k1, k2, k3	Вхід/вихід теплоносія
m	Вентиляційний отвір

Умовні позначення

	Внутрішня ємність	Рубашка
Розрахунковий тиск (МПа)	0,4 / 0,6 / 1,0	0,6
Розрахункова температура (°C)	-19°C ~ + 200°C	-19°C ~ + 200°C

*Одиниця виміру: мм

Примітка: Розрахунковий об'єм об'єм при використанні комбінованого фланця.



Умовні позначення

a	150
b	100
c	64
d	80
e1/e2	80
f	100
g	125
k1/k2/k3	32
m	G3/8"
dN	65
h5	1170

*Одиниця виміру: мм

162.01.01.00 000 BP			
Лист	Масштаб	Лист	Масштаб
1	1:1	1	1:1
Резервуар для сальников		Резервуар для сальников	
Условные обозначения		Условные обозначения	
1		1	
НБ/В		НБ/В	
Кодификатор БТ		Кодификатор БТ	
000000		000000	

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ОДЕРЖАННЯ ІНТЕРФЕРОНІВ

Бабінцева Д.Д.

Науковий керівник: доц. Двінських Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
begunova1203@gmail.com

Вступ. Інтерферони - низькомолекулярні білки з молекулярною масою 20-40кДа. Синтез інтерферону клітинами здійснюється у відповідь на проникнення в них вірусу, в результаті чого зупиняється розвиток розмноження вірусу в тканинах.

Мета дослідження. Огляд та аналіз технологій отримання інтерферонів, особливостей конструювання штамів-продуцентів, способів виділення інтерферону з клітини для визначення перспектив удосконалення їх промислового виробництва.

Матеріали та методи. Аналітично-теоретичні методи скринінгу спеціальної літератури та аналіз наукових публікацій щодо технологій отримання інтерферонів.

Результати дослідження. Досліди з перенесення генів інтерферонів людини в бактеріальні клітини були розпочаті наприкінці 70-х років минулого сторіччя майже одночасно групами дослідників у Швейцарії, Японії, США. Але на початок досліджень не було відомостей про структуру білка (інтерферону), що не давало змоги отримати ген шляхом хімічного синтезу. Крім цього, в суміші іРНК (мРНК), які кодують різні білки, частка інтерференової мРНК невелика – приблизно 0,1 %, що ускладнювало роботу з її виділення.

За короткий проміжок часу (1979-1982 рр.) гени лейкоцитарних, фібробластного й імунного інтерферонів були клоновані в *E. coli*. Була отримана достатня інформація про структуру інтерферонів та їх генів.

Для клонування гена інтерферону усі дослідники користувалися методом зворотної транскрипції мРНК інтерферону.

Досліди з перенесення генів інтерферонів людини в бактеріальні клітини були розпочаті наприкінці 1977 - на початку 1978 рр. майже одночасно групами дослідників у Швейцарії, Японії, США. Але на початок досліджень не було відомостей про структуру білка (інтерферону), що не давало змоги отримати ген шляхом хімічного синтезу. Крім цього, в суміші іРНК (мРНК), які кодують різні білки, частка інтерференової мРНК невелика – приблизно 0,1 %, що ускладнювало роботу з її виділення.

Для клонування гена інтерферону усі дослідники користувалися методом зворотної транскрипції мРНК інтерферону. За короткий проміжок часу (1979-1982 рр.) гени лейкоцитарних, фібробластного й імунного інтерферонів були клоновані в *E. coli*. Була отримана достатня інформація про структуру інтерферонів та їх генів.

Встановлено, що інтерферони синтезуються на першій стадії у вигляді попередників, що містять на N-кінці поліпептидного ланцюга сигнальний пептид, який потім відщеплюється і в результаті утворюється зрілий інтерферон, наділений повною біологічною активністю.

Досягнення у сфері технологій рекомбінантних ДНК і молекулярної біології відкривають можливості до покращення терапевтичних властивостей інтерферонів шляхом направлених змін їх генів. Якщо кожен з відповідних генів розрізати в певній ділянці однією і тією самою рестрикційною ендонуклеазою, виділити N- і C-кінцеві фрагменти генів, а потім до N-кінцевого фрагмента одного гена приєднати C-кінцевий фрагмент іншого і навпаки, то одержимо гібридні гени. Після їх введення в бактерії, дріжджі або іншу клітину-господар, вони програмуватимуть синтез гібридних інтерферонів. Такі гібридні інтерферони були отримані для інтерферонів α -A і α -D швейцарськими і американськими дослідниками.

Висновки. З літературних даних з'ясовано, що властивості гібридних і вихідних індивідуальних інтерферонів дуже відрізняються. Отже, отримання гібридних інтерферонів є підґрунтям створення абсолютно нових медичних препаратів. Крім одержання гібридних генів інтерферонів, методами генетичної інженерії можна змінювати будь-яку ділянку гена так, як це необхідно. Методами хіміко-ферментативного синтезу можна здійснити синтез повністю нових генів інтерферонів.

ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ВИРОБНИЦТВА ХАРЧОВИХ ДОБАВОК МІКРОБНИМ СИНТЕЗОМ

Береславська Ю.Р.

Науковий керівник: доц. Калюжная О.С.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
julber@ukr.net

Вступ. Харчові добавки широко використовуються в харчовій промисловості для покращення якості та безпеки харчових продуктів під час обробки, зберігання та пакування. Джерело цих молекул здійснюється переважно трьома способами: вилучення з природних джерел, хімічний синтез і мікробіологічний синтез, причому перші два використовуються найбільше. Проте зростаючі вимоги до стійкості, безпеки та «натуральних» продуктів відновили інтерес до використання методів виробництва на біологічній основі.

Мета дослідження. Вивчити особливості виробництва харчових добавок мікробним синтезом.

Матеріали та методи. Нами було проведено аналіз наукової літератури щодо перспективності застосування мікробного синтезу щодо харчових добавок.

Результати дослідження. Натуральні продукти привертають все більшу увагу як джерела харчових добавок завдяки їх різноманітним функціям. Для остаточного використання як харчової добавки необхідно розглянути такі характеристики натуральних продуктів, як токсичність, розчинність і стабільність, а також оцінити нормативні питання та прийнятність споживачів. Крім цих молекулярних особливостей, екологічна стійкість, продуктивність і вартість виробництва також є ключовими факторами, що впливають на комерційне впровадження. З цією метою біовиробництво з використанням мікроорганізмів є багатообіцяючою та економічною альтернативою виробництву харчових добавок замість хімічного синтезу та екстракції рослин. Є кілька успішних прикладів комерційних харчових добавок, що виробляються мікробним синтезом, зокрема глютамінова кислота. Промислове значення при цьому мають бактерії родів *Micrococcus*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*, *Corynebacterium*. Останнім часом для отримання глютамінової кислоти також широко застосовують методи генної інженерії, які дозволяють збільшити синтез ферментів шляхом клонування генів у плазмідах та клонувати гени, що відповідають за синтез амінокислот в клітині інших мікроорганізмів.

Висновки. Удосконалення технології мікробного синтезу харчових добавок сприяло б розвитку біовиробництва харчових продуктів. Виходячи з цього, можна очікувати зростання виробництва як майбутньої тенденції в продуктах харчування.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДИПЛОМ

III СТУПЕНЯ

нагороджується

Бабінцева Дарина

у секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри
біотехнології

XXX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
**"Актуальні питання створення нових
лікарських засобів"**

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

17-19 квітня 2024 р.
м. Харків

