

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

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ДОСЛІДЖЕННЯ ЩОДО СТВОРЕННЯ М'ЯКИХ
ЖЕЛАТИНОВИХ КАПСУЛ З ВІТАМІНОМ D»**

Виконав: здобувачка вищої освіти групи ПБтм23(1,6д)-01
спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Промислова біотехнологія
Анастасія КУЛЕШ

Керівник: професорка закладу вищої освіти кафедри
біотехнології, д. б. н., професор Ольга ФІЛІПЦОВА

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри
промислової технології ліків та косметичних засобів,
д. фарм. н., професор Олександр КУХТЕНКО

АНОТАЦІЯ

В даній роботі проведено експериментальне дослідження по створенню лікарського засобу з активним фармацевтичним інгредієнтом вітамін D в лікарській формі м'якій желатиновій капсулі. Проаналізовано дані наукової літератури про властивості вітаміну, методи отримання. Ознайомила з нормативними вимогами до створення лікарських форм у вигляді м'яких желатинових капсул та методами їх контролю якості. Проведено дослідження

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновку. Загальний обсяг роботи 43 сторінки, кількість таблиць 6, рисунків 7, джерел літератури 48.

Ключові слова: холекальциферол, м'яка капсула, вітамін D, кальцитріол, активний фармацевтичний інгредієнт.

ANNOTATION

In this work, an experimental study was conducted on the creation of a medicinal product with the active pharmaceutical ingredient vitamin D in a dosage form of a soft gelatin capsule. Scientific literature data on the properties of the vitamin, methods of obtaining were analyzed. I got acquainted with the regulatory requirements for the creation of dosage forms in the form of soft gelatin capsules and methods of their quality control. A study was conducted

The work consists of an introduction, three sections, and a conclusion. The total volume of the work is 43 pages, the number of tables is 6, figures are 7, literature sources are 48

Keywords: cholecalciferol, soft capsule, vitamin D, calcitriol, active pharmaceutical ingredient.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.	6
1.1. Характеристика вітаміну D.	6
1.2. Джерела отримання вітаміну D.	10
1.3. Методи отримання вітаміну D.	12
1.4. Характеристика м'яких капсул як лікарської форми.	23
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	31
2.1. Характеристика об'єктів дослідження.....	31
2.2. Методи дослідження.....	39
РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	41
3.1 Обґрунтування складу оболонки капсули	41
3.2 Вибір наповнювача капсул з вітаміном D	43
ВИСНОВКИ.....	48
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	49
ДОДАТОК.....	54

ВСТУП

Актуальність теми

Вітамін D класифікують як жиророзчинний вітамін, який виступає у функціональній ролі гормону. Його структура подібна до структури стероїдних гормонів.

Цей вітамін є важливим для здоров'я кісток, але останні дослідження також вказують на його важливу роль у функціях, не пов'язаних зі скелетом, таких як ріст скелетних м'язів, імунні та серцево-легеневі функції, а також модуляцію запальних процесів.

Тому його дефіцит може призвести до численних пошкоджень організму. У зв'язку з цим питанням ефективного отримання вітаміну D₃ залишається актуальним для медицини, фармації та харчової промисловості.

В даний час лікарська форма у вигляді желатинових капсул стала дуже популярною у виробників фармацевтичних препаратів, лікарів і споживачів, завдяки ряду таких позитивних характеристик як висока біологічна доступність, висока точність дозування, естетичність і коригуюча здатність, менша кількість допоміжних речовин при виготовленні капсул.

Мета роботи – дослідження щодо створення лікарського засобу з активним фармацевтичним інгредієнтом холекальциферол у вигляді м'яких желатинових капсул для застосування при дефіциті вітаміну D в організмі.

Завдання досліджень:

- проаналізувати наукові літературні дані про властивості та методи отримання вітаміну D;
- ознайомитися з вимогами до лікарських форм у вигляді м'яких капсул та методами їх контролю;
- провести вибір об'єктів та методів дослідження;
- обґрунтувати склад м'яких капсул з вітаміном D.

Об'єктом дослідження є холекальциферол, допоміжні речовини, м'які капсули.

Предметом дослідження є теоретичні та експериментальні дослідження щодо створення м'яких желатинових капсул.

Практичне значення отриманих результатів. Розробка складу м'яких желатинових капсул.

Апробація результатів досліджень та публікацій.

Результати досліджень опубліковані в матеріалах конференції:

1. Кулеш А. В., Хохленкова Н. В. Методи отримання вітаміну D₃. Youth Pharmacy Science: матеріали V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (10-11 грудня 2024 р., м. Харків). – С. 156-157.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.

Робота складається зі вступу, трьох розділів: літературний огляд, об'єкти та методи досліджень, експериментальний розділ та висновки. Загальний обсяг роботи 43 сторінки, кількість таблиць 6, рисунків 7, джерел літератури 48, додатків 1.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

1.1. Характеристика вітаміну D.

Вітаміни - низькомолекулярні органічні сполуки з високою біологічною активністю, необхідні для нормальної життєдіяльності людини. Ці сполуки складаються з вуглецю, водню, кисню, азоту, сірки, фосфору та інших хімічних елементів, не синтезуються (або синтезуються у вкрай низьких кількостях) в організмі і надходять до нього з їжею

Неможливо переоцінити значущість вітамінів для підтримання здоров'я дітей та підлітків. На відміну від макронутрієнтів (білків, жирів і вуглеводів), вітаміни не є джерелом енергії або пластичного матеріалу, проте відіграють надважливу роль специфічних регуляторів фізіологічних та метаболічних процесів, які лежать в основі реалізації більшості життєво важливих функцій організму, збалансованої роботи усіх його органів і систем. Так, зокрема, вітаміни необхідні для забезпечення ростових процесів, підтримання нормального кровотворення і статеві функції, адекватного функціонування нервової, серцево судинної і травної систем, ендокринних залоз, а також для підтримання зору і нормальних властивостей шкіри. Вітамінам належить виключно важлива роль у забезпеченні адекватної імунної відповіді; функціонуванні систем метаболізму ксенобіотиків, формуванні антиоксидантного потенціалу організму, а, отже, підтриманні стійкості людини до різноманітних інфекцій, отрут, радіоактивного випромінювання та інших несприятливих зовнішніх факторів.

Відповідно до прийнятої класифікації вітаміни поділяються на жиророзчинні, до яких відносять: вітаміни А, D, Е, К; водорозчинні - вітаміни групи В, С, РР.[1]

У червні 1922 року The Times повідомила, що команда біохіміка DR.E.V. VcCollum відкрила не відомий до цього часу вітамін, який чинить специфічний вплив на здоров'я кісток і запобігає такій хворобі, як рахіт. Його назвали вітаміном D за порядком букв латинського алфавіту - він був четвертим відкритим вітаміном. [2]

Цей вітамін є важливим для здоров'я кісток, але останні дослідження також вказують на його важливу роль у функціях, не пов'язаних зі скелетом, таких як ріст скелетних м'язів, імунні та серцево-легеневі функції, а також модуляцію запальних процесів. [3]

Вітамін D класифікують як жиророзчинний вітамін, який і виступає у функціональній ролі гормону. Його структура подібна до структури стероїдних гормонів. [4, 5]

Основними вітамерами вітаміну D є такі:

- D₁ (ергокальциферол і люмістерол у співвідношенні 1:1),
- D₂ (ергокальциферол або ергостерол),
- D₃ (холекальциферол),
- D₄ (2,2-дигідроергокальциферол),
- D₅ (ситокальциферол, або 7-дегідроситостерол) і
- D₆ (сигма-кальциферол).

Гормонально активною формою вітаміну D є 1 α ,25-дигідроксивітамін D (1 α ,25(OH)₂D), утворений з вітамерів вітаміну D через 25-гідроксивітамін D (25(OH)D), який включає 25(OH)D₂ і 25(OH)D₃ і вимірюється в сироватці крові як загальний 25(OH)D для оцінки забезпеченості організму вітаміном D. [6, 7, 8, 9]

Найвищу біологічну активність в організмі людини проявляють вітаміни D₂ (ергокальциферол) і вітамін D₃ (холекальциферол). Вітамін D₂ синтезується ультрафіолетовим В (UVB) опроміненням ергостеролу. D₃ отримується шляхом фотохімічної реакції в шкірі та через дієту через споживання продуктів тваринного походження (наприклад, жир печінки тріски та жирна риба). [10]

Основним джерелом вітаміну D є фотохімічне та термічне перетворення 7-дегідрохолестролу в шкірі під впливом УФ-випромінювання (рис. 1.1). Поглинання УФ-випромінювання (290–315 нм) шкірою призводить до розкриття кільця В 7-дегідрохолестролу, який утворює термодинамічно

нестабільний превітамін D₃ (9,10-секостерин). Це термічно ізомеризується в більш стабільний вітамін D₃ (холекальциферол). [11]

Вітамін D або утворювався в шкірі, або поглинався з їжі в тонкому кишечнику і транспортувався в печінку. У печінці вітамін D гідроксильється 25-гідроксилазою вітаміну D (CYP2R1) з утворенням 25-гідроксिवітаміну D (25(OH)D) або кальцидіолу, який є загальноприйнятим біомаркером статусу вітаміну D. Потім 25(OH)D транспортується до нирок, де додатково гідроксильється 1- α -гідроксилазою (CYP27B1) для отримання його біологічно активної форми 1- α -25-дигідроксивітаміну D (1,25(OH)₂D, також відомий як кальцитріол). Вітамін D та його метаболіти транспортуються до клітин-мішеней переважно шляхом зв'язування з білком, що зв'язує вітамін D (DBP). Крім того, 25(OH)D і 1,25(OH)₂D метаболічно інактивуються через гідроксилювання 24-гідроксилазою (CYP24A1). Рівень вітаміну D у сироватці тісно регулюється за допомогою петель зворотного зв'язку, що включають дії кальцію, фосфору, 1,25(OH)₂D, паратиреоїдного гормону (ПТГ) і фактора росту фібробластів. [21]

Згідно з рекомендаціями Ендокринного товариства США, рівень 25(OH)D у сироватці крові нижче 20 нг/мл (50 нмоль/л) вважається дефіцитом вітаміну D, тоді як рівень 25(OH)D у сироватці крові становить 21–29 нг/мл. (52,5–72,5 нмоль/л) визначаються як недостатність вітаміну D. Для суб'єктів із сироватковими рівнями 25(OH)D від 20 до 21 нг/мл загальновизнано, що значення сироваткових рівнів 25(OH)D нижче 20,5 нг/мл приймаються за 20 нг/мл і, отже, вважаються вітамінними. Дефіцит D, тоді як рівні 25(OH)D у сироватці крові $\geq$ 20,5 нг/мл приймаються за 21 нг/мл і розглядаються не вистачає вітаміну D. [11]

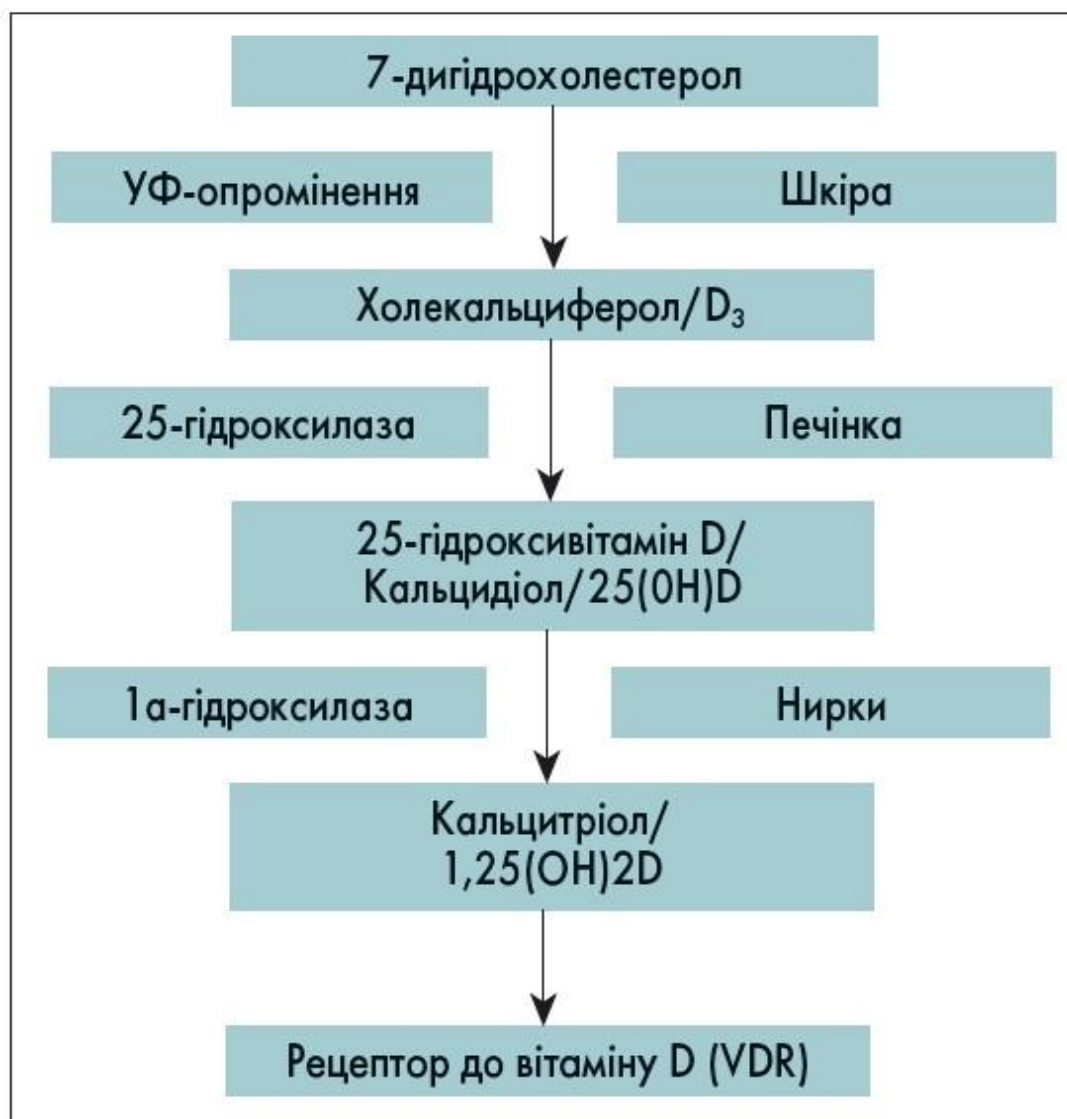


Рис. 1.1 Метаболізм вітаміну D

Дефіцит вітаміну D зустрічається в представників усіх рас, незалежно від географічних широт проживання, і є найбільш поширеною нутриційною недостатністю у світі. 81,8% українців страждають на дефіцит, 13,6% мають недостатність і лише 4,6% мають нормальний рівень вітаміну D у сироватці крові. Ці дані, опубліковані в 2014 році проф. В.В. Поворознюком, не втрачають своєї актуальності й дотепер. [12]

Вітамін D було відкрито понад 100 років тому, і на сьогодні підтверджено його вирішальне значення для багатьох біологічних процесів, зокрема підтримки кальцій-фосфорного гомеостазу, мінералізації кісток, проліферації та диференціації клітин у різних органах і системах. Встановлені численні геномні й негеномні механізми впливу вітаміну D в організмі

людини, які відповідальні за реалізацію його скелетних і позаскелетних ефектів, а рецептори до вітаміну D (VDR) виявлені в ядрах і клітинних мембранах майже всіх органів і тканин людини. [13, 14, 15,16, 17, 18, 19]

1.2. Джерела отримання вітаміну D.

Доведено, що зниження рівня вітаміну D нижче 30 нг/мл не тільки має негативний вплив на опорно-руховий апарат, а також виступає в якості факторів ризику розвитку гострих та загострення хронічних захворювань, у тому числі інфекційних, аутоімунних, серцево-судинних захворювань, цукрового діабету першого і другого типу, певних видів раку, нейрокогнітивних порушень та психічних захворювань, а також є чинником розвитку інших станів, таких, як безпліддя, або патологічний перебіг вагітності і пологів. [20]

У відповідності до «Діагностики, профілактики та лікування дефіциту вітаміну D у дорослих: Консенсус Українських експертів» 2023 року були встановлені наступні рівні вітаміну D у сироватці крові

- Дефіцит вітаміну D — < 20 нг/мл (< 50 нмоль/л);
- Недостатність вітаміну D ≥ 20 нг/мл (≥ 50 нмоль/л) і < 30 нг /мл (< 75 нмоль/л);
- Достатній рівень вітаміну D — 30–50 нг/мл (75–125 нмоль/л);
- Безпечний, але не цільовий рівень вітаміну D — > 50 –60 нг/мл (> 125 –150 нмоль/л);
- Зона невизначеності з потенційними перевагами чи ризиками — > 60 –100 нг/мл (> 150 –250 нмоль/л);
- Надлишок/зона токсичності вітаміну D — > 100 нг/мл (> 250 нмоль/л).

[21]

Потреба у вітаміні D, який надходить з їжею й добавками, залежить від інтенсивності впливу на людину сонячного проміння.

Опромінення всього тіла сонячним світлом у дозі, що відповідає одній мінімальній еритематозній дозі, тобто мінімальній дозі, яка призводить до

почервоніння шкіри через 24 годин після впливу, у молодій людини еквівалентне прийому 20 000 МО вітаміну D. [22]

Відповідно до позиції Міжнародного товариства ендокринологів рекомендована добова норма споживання вітаміну D становить не менше від 600–800 МО для дорослих віком 18–50 років, не менше від 800–1000 МО для осіб, старших за 50 років, не менше від 800–1200 МО для вагітних і жінок, які годують (на думку низки експертів — 2000 МО протягом усієї вагітності). При цьому, на думку деяких експертів, для підтримання оптимальних рівнів вітаміну D крові понад 30 нг/мл необхідний щоденний прийом понад 1500–2000 МО на добу, а при ожирінні й порушеннях метаболізму вітаміну D — понад 6000–8000 МО на добу (Holick M.F. et al., 2011).

Можливості отримання вітаміну D з їжею залишаються досить обмеженими. Найбільша кількість вітаміну D міститься в жирній рибі (лосось — 600–1000 МО/100 г дикої риби, 100–250 МО/100 г — вирощеної на фермі; консервовані сардини — 300–600 МО/100 г), олії печінки тріски (400–1000 МО/1 ч.л.), яєчних жовтках (20 МО/шт). При цьому щодня в Україні споживає рибу не більше від 25 % населення. Отже, рівень споживання населенням продуктів, що містять вітамін D, не забезпечує належного надходження цього вітаміну в організм. [23]

Кілька продуктів природно містять вітамін D. М'ясо жирної риби (такої як форель, лосось, тунець і скумбрія) і риб'ячий жир є одними з найкращих джерел. Харчування тварини впливає на кількість вітаміну D в її тканинах. Яловича печінка, яєчні жовтки та сир містять невелику кількість вітаміну D, переважно у формі вітаміну D₃ і його метаболіту 25(OH)D₃. Гриби забезпечують різну кількість вітаміну D₂. Деякі гриби, доступні на ринку, були оброблені ультрафіолетовим світлом для підвищення рівня вітаміну D₂. [24, 25, 26, 27]

Крім того, Управління з контролю за продуктами й ліками (FDA) схвалило грибний порошок, оброблений УФ-променями, як харчову добавку для використання в якості джерела вітаміну D₂ у харчових продуктах. Дуже

обмежені дані свідчать про відсутність суттєвих відмінностей у біодоступності вітаміну D з різних харчових продуктів. [24, 25,26, 27]

Продукти тваринного походження зазвичай містять деяку кількість вітаміну D у формі 25(OH)D на додаток до вітаміну D₃. Вплив цієї форми на статус вітаміну D є новою областю досліджень. Дослідження показують, що 25(OH)D є приблизно в п'ять разів більш потужним, ніж вихідний вітамін для підвищення концентрації 25(OH)D у сироватці крові. Одне дослідження показало, що якщо взяти до уваги вміст 25(OH)D у яловичині, свинині, курці, індичці та яйцях, загальна кількість вітаміну D у їжі в 2-18 разів перевищує кількість у вихідному вітаміні. окремо, залежно від їжі. [24, 25,26, 27]

1.3. Методи отримання вітаміну D.

Холекальциферол, або вітамін D₃, є найважливішою фізіологічною формою вітаміну D. За нормальних біологічних умов люди та тварини можуть виробляти достатню кількість вітаміну D₃ у своїй шкірі при дії сонячного ультрафіолетового випромінювання (290–315 нм). Однак у зимові місяці виробляється дуже низька кількість вітаміну D₃. [28, 29, 30]

Вітамін D₃ є біологічно неактивним прогормоном, який перетворюється в активний гормон кальцитріол шляхом двох послідовних ферментативних гідроксилювань в організмі. Кальцитріол відіграє центральну роль у підтримці гомеостазу кальцію і фосфору, контролюючи всмоктування кальцію в кишечнику, мобілізацію кальцію з кісток і затримку в нирках. (Рис. 1.2).

Щоб задовольнити потреби ринку, вітамін D₃ виробляється в промислових масштабах шляхом хімічного синтезу та біотехнологічним методом. [28, 29, 30]

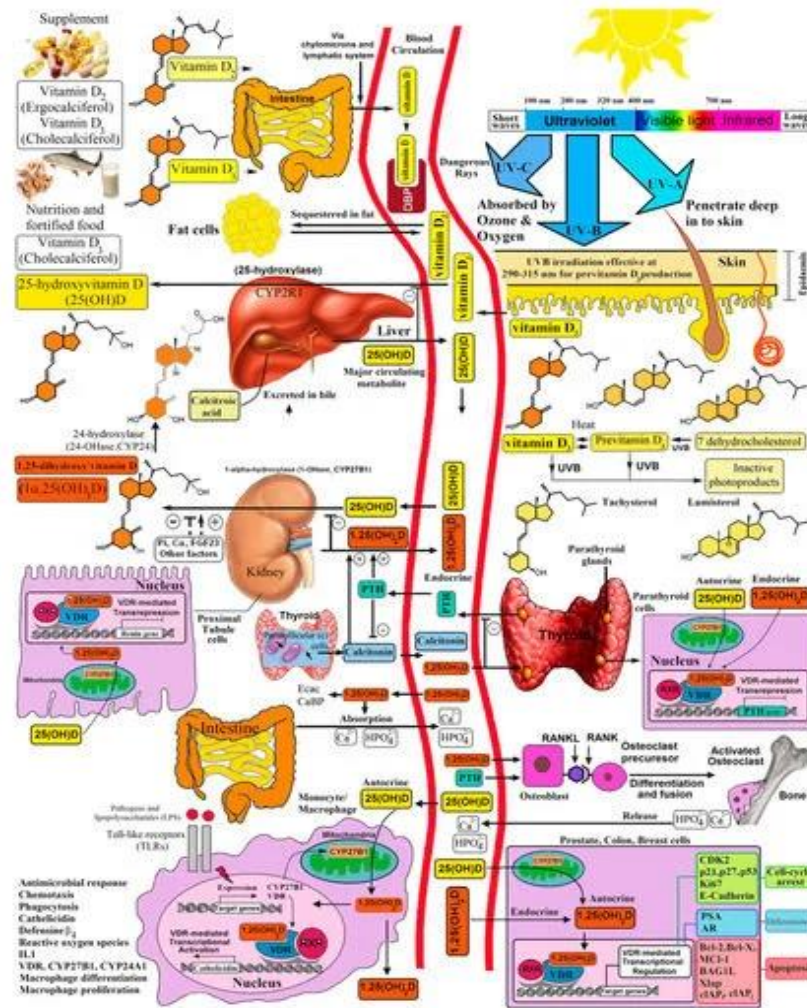


Рис. 1.2 Фотохімічне перетворення холекальциферола.

На рисунку 1.2 наведено схематичне зображення синтезу та метаболізму вітаміну D для скелетної та позаскелетної функції. Під час впливу сонячного світла 7-дегідрохолестерин у шкірі перетворюється на превітамін D₃. Превітамін D₃ миттєво перетворюється за допомогою теплосталежного процесу у вітамін D₃. [31, 32]

Надмірний вплив сонячного світла розкладає превітамін D₃ і вітамін D₃ до неактивних фотопродуктів. Вітамін D₂ і вітамін D₃ з харчових джерел включені в хіломікрони і транспортуються лімфатичною системою у венозний кровообіг. [31, 32]

Вітамін D (D означає D₂ або D₃), що утворюється в шкірі або потрапляє в їжу, може зберігатися в жирових клітинах, а потім вивільнятися з них. Вітамін D у кровообігу зв'язується з білком, що зв'язує вітамін D (DBP), який

транспортує його до печінки, де вітамін D-25-гідроксилаза перетворює його на 25-гідроксिवітамін D [25(OH)D]. Це основна циркулююча форма вітаміну D, яка використовується клініцистами для вимірювання статусу вітаміну D (хоча більшість довідкових лабораторій повідомляють, що нормальний діапазон становить 20–100 нг/мл, бажаний для здоров'я діапазон становить 30–60 нг/мл). Він біологічно неактивний і повинен перетворюватися в нирках за допомогою 25-гідроксिवітаміну D-1 α -гідроксилази (1-OHase) до його біологічно активної форми 1,25-дигідроксिवітаміну D [1,25(OH)₂D]. [31, 32]

Потім 1,25(OH)₂D₃ поглинається клітинами-мішенями та націлюється на внутрішньоклітинні D-зв'язувальні білки (IDBP) до мітохондріальної 24-гідроксилази або до рецептора вітаміну D (VDR). Комплекс 1,25(OH)₂D₃-VDR гетеродимеризується з рецептором ретиноєвої кислоти (RXR) і зв'язується зі специфічними послідовностями в промоторних областях гена-мішені. ДНК-зв'язаний гетеродимер притягує компоненти комплексу РНК-полімерази II і ядерні регулятори транскрипції. Сироватковий фосфор, кальцієві фактори росту фібробластів (FGF-23) та інші фактори можуть збільшувати або зменшувати вироблення 1,25(OH)₂D нирками. 1,25(OH)₂D зворотного зв'язку регулює власний синтез і знижує синтез і секрецію паратгормону (ПТГ) у паращитовидних залозах. [31, 32]

1,25(OH)₂D збільшує експресію 25-гідроксивітамін D-24-гідроксилази (24-OHase) для катаболізму 1,25(OH)₂D до водорозчинної, біологічно неактивної кальцитроєвої кислоти, яка виділяється в жовчі. 1,25(OH)₂D посилює кишкову абсорбцію кальцію в тонкій кишці, стимулюючи експресію епітеліального кальцієвого каналу (ECaC) і кальбіндину 9K (кальційзв'язувальний білок, CaBP). 1,25(OH)₂D розпізнається його рецептором в остеобластах, викликаючи збільшення експресії рецепторного активатора ліганду NF- κ B (RANKL). Його рецептор RANK на преостеокласте зв'язує RANKL, що спонукає преостеокласт стати зрілим остеокластом. Зрілий остеокласт видаляє кальцій і фосфор з кістки, щоб підтримувати рівень кальцію і фосфору в крові. [31, 32]

Адекватний рівень кальцію і фосфору сприяє мінералізації скелета. Аутокринний/паракринний метаболізм 25(OH)D відбувається, коли макрофаг або моноцит стимулюється через його толл-подібний рецептор 2/1 (TLR2/1) інфекційним агентом, таким як *Mycobacterium tuberculosis* або його ліпополісахаридом, сигнал підвищує експресію VDR і 1-OHase.

Рівень 25(OH)D 30 нг/мл або вище забезпечує адекватні рівні субстрату для 1-OHase для перетворення 25(OH)D на 1,25(OH)₂D у мітохондріях. 1,25(OH)₂D переміщується до ядра, де він посилює експресію кателіцидину, пептиду, здатного сприяти розвитку вродженого імунітету та індукувати руйнування інфекційних агентів, таких як *M. tuberculosis*. [31, 32]

Також ймовірно, що 1,25(OH)₂D, що виробляється в моноцитах або макрофагах, вивільняється для локальної дії на активовані Т-лімфоцити, які регулюють синтез цитокінів, і активовані В-лімфоцити, які регулюють синтез імуноглобулінів. Коли рівень 25(OH)D становить приблизно 30 нг/мл, ризик багатьох поширених видів раку знижується. Вважається, що місцеве виробництво 1,25(OH)₂D у молочній залозі, товстій кишці, передміхуровій залозі та інших тканинах регулює низку генів, які контролюють проліферацію. [31, 32]

Для масштабного виробництва холекальциферола застосовується хімічний синтез. Хімічний синтез є ключовим процесом у промисловій хімії, який дозволяє отримувати складні органічні сполуки, включаючи вітаміни, з простих вихідних речовин. Цей підхід забезпечує високу чистоту продукту та можливість контролю над виходом речовин, що є важливим для медичного застосування. Загальний синтез холекальциферолу включає кілька етапів, таких як перетворення стероїдних сполук та хімічну модифікацію з отриманням потрібної структури. Для проведення таких процесів створені хімічні реактори, що забезпечують точність умов синтезу. Контроль температури, тиску та інших каталізаторів має вирішальне значення для оптимізації процесу. Завдяки цьому вдається досягти високої ефективності

виробництва та стабільності готового продукту. Нижче наведена поетапне хімічне перетворення для отримання холекальциферолу. [33] (Рис. 3-5).

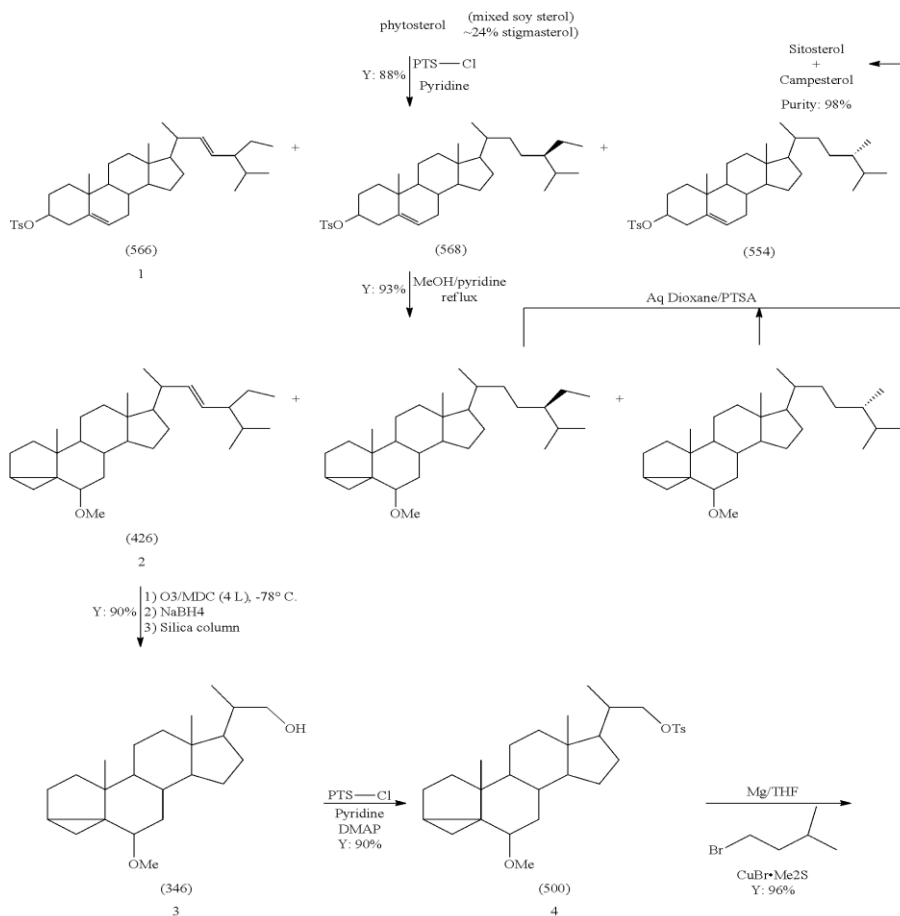


Рис. 1.3 Схema хімічного синтезу холекальциферолa

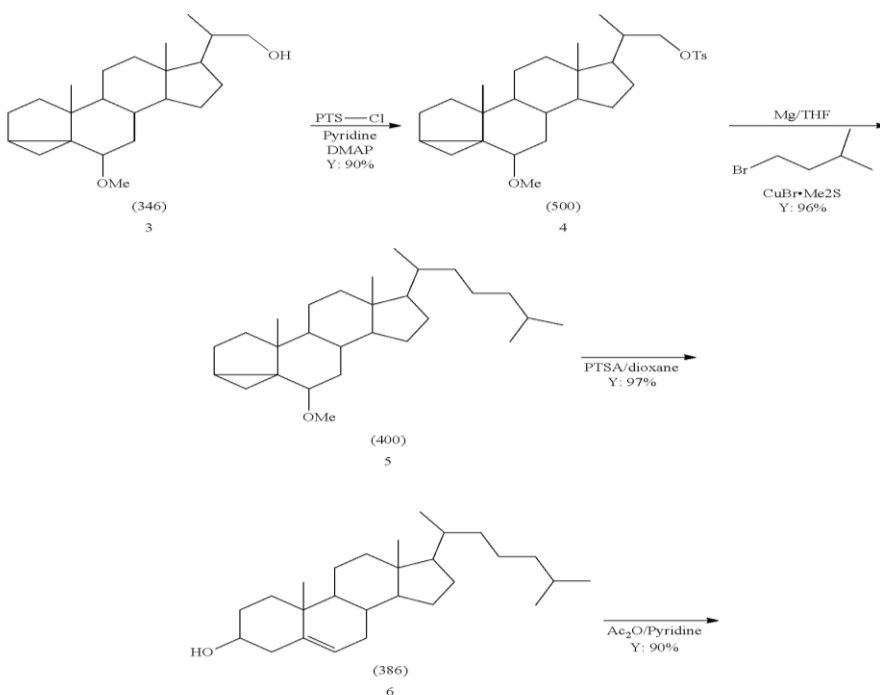


Рис. 1.4 Продовження схеми хімічного синтезу холекальциферолу

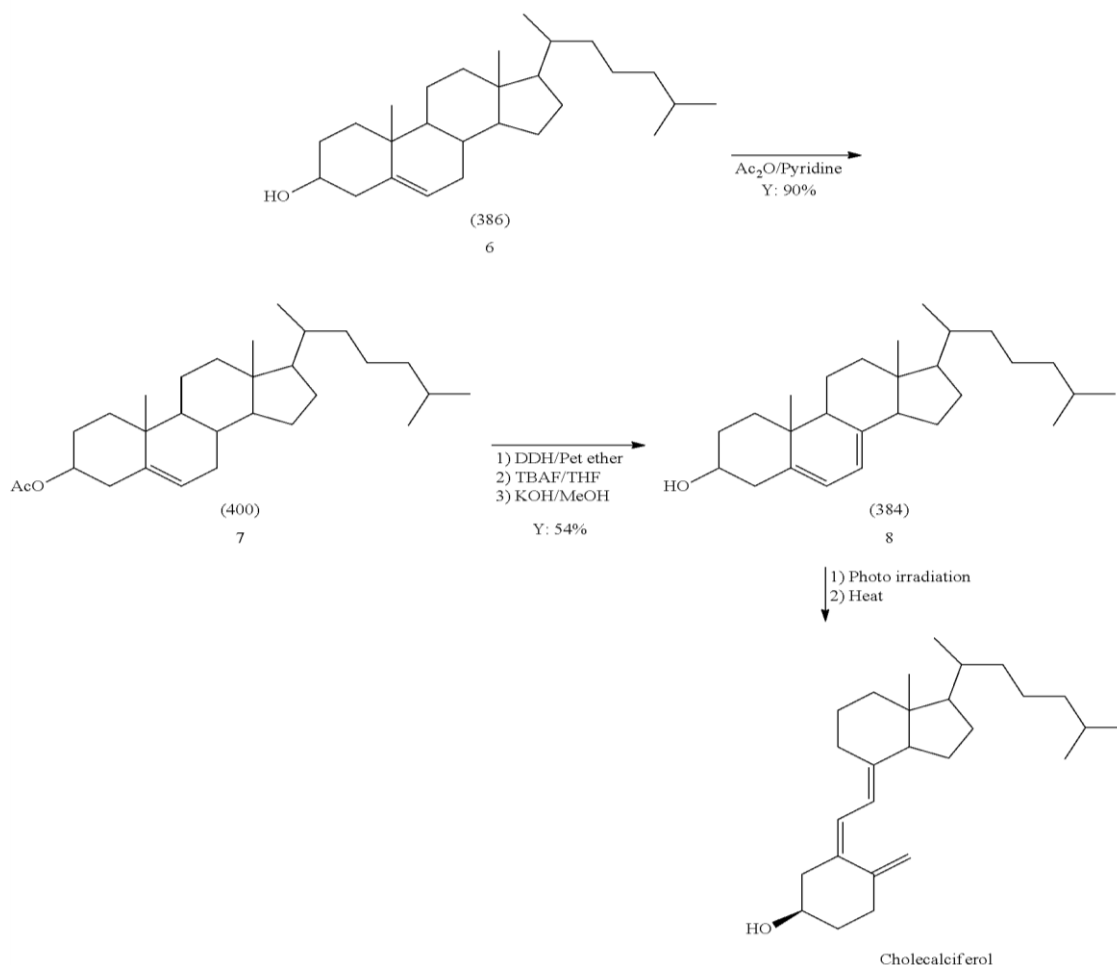


Рис. 1.5 Завершення схеми хімічного синтезу холекальциферола

Патент US 2022/0372065 A1 [33] описує багатоступеневий процес синтезу високочистого вітаміну D3 (холекальциферолу) з використанням похідних холестерину. Метод включає кілька ключових етапів, які дозволяють отримати ефективний результат із забезпеченням високої чистоти та стабільності. [33]

Основні етапи процесу:

Підготовка сировини

Як вихідний матеріал з використанням фітостеролу, який піддається хімічній обробці з метою утворення активних похідних. Спочатку до фітостеролу додають п-толуолсульфонілхлорид, отримуючи фітостерилтозилат. Ця сполука служить ключовим інтермедіатом для наступних стадій і використовується без додаткового очищення. Подальші

перетворення включають реакцію з метанолом, піридином і борогідридом натрію, які забезпечують утворення таких сполук, як (20S)-20-гідроксиметил-6 β -метокси-3 α ,5-цикло-5 α -прегнан. [33]

Перетворення стеролу в холестерин

Етапи омилення, галогенування, обробки каталітичними агентами (наприклад, PTSA) забезпечують перетворення вихідних інтермедіатів у чистий холестерин. Цей процес включає контроль температури, наступне видалення побічних продуктів, а також екстракцію й очищення органічних розчинників. Проміжний продукт, 7-дегідрохолестерин, синтезується шляхом складних хімічних реакцій, що включають використання магнію, ТГФ, ізопентилброміду, а також реагентів, як-от CuBr·Me₂S. [33]

Опромінення для отримання вітаміну D₃

Ключовим етапом є опромінення 7-дегідрохолестерину ультрафіолетовими променями довжиною хвилі 250–360 нм. Ця реакція проходить у присутності сенсibilізаторів (наприклад, 5-(3-піридил)-2,2'-бітіофену) та стабілізаторів (бутильованого гідрокситолуолу, ВНТ). В результаті утворюється preD₃, який додатково перетворюється на вітамін D₃ шляхом рекристалізації. Весь процес контролюється за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для забезпечення високої якості кінцевого продукту. [33]

Очищення та контроль якості

Кінцевий продукт очищається за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі з використанням сумішей толуолу та метилкетону. Після цього двоетапна рекристалізація в ацетоні/воді. У результаті містяться чисті кристали вітаміну D₃, які мають високий рівень чистоти та стабільності. [33]

Особливості методу:

- Процес включає багаторазову екстракцію, промивання, фільтрацію й концентрацію, що забезпечує мінімізацію витрат матеріалів.
- Використання сенсibilізаторів і стабілізаторів дозволяє ефективно перетворювати побічні продукти в корисний кінцевий продукт.

- Усі етапи характеризуються точним температурним контролем і багатоетапним очищенням.

Цей метод підходить для промислового виробництва вітаміну D₃, який широко використовується у фармацевтичних, харчових та косметичних галузях. [33]

Дефіцит вітаміну D пов'язаний із багатьма захворюваннями людини. Оптимізація його синтезу, фізико-хімічних властивостей і систем доставки при мінімізації побічних ефектів має клінічне значення та становить великий медичний і промисловий інтерес. Біотехнологічні методи можуть створювати нові модифіковані форми вітаміну D, які можуть демонструвати покращене засвоєння, стабільність або спрямовані фізіологічні ефекти. Нові модифіковані похідні вітаміну D є перспективними для розробки майбутніх терапевтичних підходів і вирішення конкретних проблем зі здоров'ям, пов'язаних з дефіцитом вітаміну D або порушенням обміну речовин, наприклад, для уникнення гіперкальціємічних ефектів. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Біотехнологічний метод отримання холекальциферолу (вітаміну D₃)

Методи біотехнологічного отримання холекальциферолу стали дуже популярними завдяки тому, що зростає потреба в екологічно чистих і доступних способах виробництва вітамінів. У таких підходах використовуються мікроорганізми, наприклад, дріжджі та бактерії, які здатні синтезувати вітамін D₃ або його попередники. Головними моментами тут є створення оптимальних умов вирощування, модифікація генів мікроорганізмів та вдосконалення процесів очищення. Біотехнологічні методи дозволяють отримувати високоякісний продукт з мінімальними витратами ресурсів та шкідливим впливом на навколишнє середовище. [37]

Використання дріжджів у виробництві вітаміну D₃

Одним із напрямів є застосування дріжджів, зокрема *Saccharomyces cerevisiae*. Ці мікроорганізми здатні виробляти ергостерол - стерол, що під дією ультрафіолетового (УФ) світла перетворюється на вітамін D₂. Щоб отримати вітамін D₃, який більш корисний для організму, дріжджі піддають

генетичним змінам. Нижче наведена технологічна схема (рис 1.6) отримання холекальциферолу за допомогою дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. [35]



Рис. 1.6 Технологічна схема отримання холекальциферолу з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*

У процесі використання дріжджів важливим є не лише генетична модифікація, а й вибір оптимального середовища для вирощування, яке забезпечує найвищу продуктивність мікроорганізмів. Наприклад, додавання специфічних поживних речовин, таких як джерела азоту або вітамінів, може значно підвищити синтез стеролів. За результатами досліджень, застосування модифікованих дріжджів дозволяє отримати вітамін D₃ з мінімальними затратами енергії та високою біодоступністю продукту. Генетичні зміни також включають оптимізацію ферментів, що полегшують утворення вітаміну з попередників. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Використання бактерій для біоконверсії вітаміну D₃

Бактерії, як-от *Actinomyces hyovaginalis* CCASU-A11-2, мають здатність до перетворення вітаміну D₃ у його активні форми, наприклад кальцитріол (1,25(OH)₂D₃). Це корисно для виробництва ліків, де потрібна активна форма вітаміну. Основні етапи:

- Вирощування бактерій на середовищі, що містить стероли.
- Ферментативна біоконверсія вітаміну D₃.
- Отримання кінцевого продукту через екстракцію та очищення.

Процес ферментації бактерій включає кілька критичних стадій, які впливають на ефективність виробництва. Одним із ключових факторів є контроль температури і кислотності середовища, оскільки вони можуть стимулювати або пригнічувати активність ферментів. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Крім того, використання інженерних штамів дозволяє значно підвищити рівень конверсії стеролів у кінцевий продукт. Наприклад, модифікація бактерій шляхом додавання генів, що кодують спеціальні ферменти, дає змогу отримувати більшу кількість активної форми вітаміну D₃ з того ж об'єму вихідного матеріалу. У деяких дослідженнях описується використання спеціальних індукторів для підвищення продуктивності процесу біоконверсії. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Чим корисні біотехнологічні методик:

Екологічні. Виробничі процеси мінімізують використання шкідливих речовин, що позитивно впливає на довкілля.

Дешевші. Ефективність мікроорганізмів і можливість використовувати залишки харчової промисловості роблять виробництво дешевшим.

Безпечні. Біологічний підхід допомагає уникнути домішок токсичних хімічних речовин.

Біотехнологічні методи особливо актуальні у сучасних умовах, коли зростає попит на вітамін D₃ у медицині, харчовій промисловості та косметології. Екологічна безпека цих способів робить їх важливими для глобального ринку вітамінів. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Загальна схема біотехнологічного виробництва холекальциферолу наведена нижче:

Підготовка середовища:

- Підбір оптимального живильного середовища (глюкоза, джерела азоту, мікроелементи).
- Стерилізація компонентів.

Вирощування мікроорганізмів:

- Засівання дріжджів або бактерій.
- Вирощування в аеробних або анаеробних умовах залежно від шляху синтезу.
- Налагодження температури, кислотності та подачі повітря.

Синтез стеролів:

- Використання змінених штамів мікроорганізмів.
- Додавання речовин, які стимулюють утворення холестеролу або ергостеролу.

Обробка УФ-світлом:

- Вплив контрольованого УФ-випромінювання для утворення вітаміну D₃.
- Забезпечення рівномірного опромінення шляхом перемішування культури.

Екстракція і очищення:

- Отримання продукту за допомогою органічних розчинників.
- Використання хроматографічних методів для очищення.

Кристалізація:

- Виділення чистого вітаміну D₃ у вигляді кристалів.
- Контроль якості через високоточні аналітичні методи. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Наприклад, у статті "Optimized UV exposure for the production of vitamin D by microbes" йдеться про те, як правильно підібраний вплив УФ-світла може значно підвищити ефективність утворення вітаміну D₃. Також наголошується на важливості рівномірного перемішування культури. Крім цього, використання нових методів екстракції, наприклад рідинної екстракції, дозволяє отримати ще чистіший продукт із високою біодоступністю. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

Біотехнологічні способи отримання холекальциферолу дозволяють створювати якісний продукт із меншими витратами та без шкоди для природи. Вони задовольняють зростаючий попит на вітамін D₃ на ринку та мають великий потенціал для подальшого вдосконалення. Вивчення нових штамів мікроорганізмів, поліпшення генетичних модифікацій і вдосконалення технологій очищення роблять біотехнологічний підхід ще більш перспективним у майбутньому. [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42]

1.4. Характеристика м'яких капсул як лікарської форми

Капсули — тверді препарати з твердими або м'якими оболонками різної форми і місткості, що містять одну дозу діючої речовини (діючих речовин). Вони зазвичай призначені для орального застосування. [43, 44, 45]

Оболонки капсул виготовлені з желатину або інших речовин. Консистенція оболонок може регулюватися шляхом додавання таких речовин, як гліцерин або сорбіт. До складу оболонки можуть входити такі допоміжні речовини, як поверхнево-активні речовини, наповнювачі, що забезпечують

непрозорість, антимікробні консерванти, підсолоджувачі, барвники, дозволені уповноваженим органом, ароматизатори. Капсули можуть містити символи або інші позначення. [43, 44, 45]

Вміст капсул може бути твердим, м'яким або рідким. Він складається з однієї або більше діючих речовин або без додавання допоміжних речовин, або з допоміжними речовинами, такими як розчинники, розріджувачі, змащувальні й розпушувальні речовини. Вміст капсули не має руйнувати оболонку; однак під дією травних соків оболонка має руйнуватися і вивільняти вміст. [43, 44, 45]

Де прийнятно, контейнери для капсул мають відповідати вимогам загальних статей «Матеріали, використовувані для виробництва контейнерів» (3.1 та підрозділи) і «Контейнери» (3.2 та підрозділи).

Капсули можуть бути класифіковані як:

- капсули тверді;
- капсули з модифікованим вивільненням;
- капсули кишковорозчинні;
- облатки;
- капсули м'які.

Капсули тверді — тверді однодозові препарати. Вони складаються з твердої оболонки різної місткості й містять твердий, м'який або рідкий препарат. Оболонка виробляється з желатину або з інших речовин і складається з двох вироблених заздалегідь циліндричних частин, відкритих на одному кінці та закруглених і закритих на іншому. Одна частина заповнюється вмістом і закривається шляхом насування на неї іншої частини. [43, 44, 45]

Капсули з модифікованим вивільненням — тверді або м'які капсули, вміст і/або оболонка яких мають у складі спеціальні допоміжні речовини або готуються спеціальним способом, призначеним для зміни швидкості, місця або часу вивільнення діючої речовини (діючих речовин). [43, 44, 45]

Капсули кишковорозчинні (капсули гастрорезистентні) — капсули з відстроченим вивільненням, які мають бути стійкими у шлунковому соку і

вивільняти діючу речовину (діючі речовини) у кишковому соку. Вони можуть бути вироблені способом заповнення капсул гранулами або частинками, вкритими кишковорозчинною оболонкою. [43, 44, 45]

В інших випадках оболонка капсули вкрита кишковорозчинним покриттям або сама оболонка має кишковорозчинні властивості

Облатки — тверді препарати, що складаються з твердої оболонки і містять одну дозу однієї або більше діючих речовин. Оболонка облатки приготована із прісного тіста, зазвичай з рисового борошна. Вона складається з двох вироблених заздалегідь циліндричних плоских частин. Перед застосуванням облатки занурюють у воду на декілька секунд, поміщають на язик і проковтують, запиваючи водою. [43, 44, 45]

Капсули м'які — тверді однодозові препарати. Вони складаються з м'якої оболонки різної місткості й форми та містять м'який або рідкий препарат. Оболонка виробляється з желатину або інших речовин і може містити одну або більше твердих діючих речовин. Оболонка зазвичай товща за оболонку твердої капсули і складається з однієї частини, оскільки м'які капсули, як правило, формуються, заповнюються і герметизуються в одній операції. [43, 44, 45]

Капсули м'які зазвичай формуються, заповнюються і герметизуються в одній операції, але для екстемпорального застосування оболонка може бути вироблена заздалегідь. Матеріал оболонки може містити діючу речовину. Рідини можуть бути поміщені в капсулу безпосередньо; тверді речовини зазвичай розчиняють або диспергують у підходящому середовищі для утворення розчину або суспензії майже пастоподібної консистенції. Можлива часткова міграція складових компонентів вмісту капсули до оболонки і навпаки зумовлена природою матеріалів і поверхонь, що контактують. [43, 44, 45]

Капсули м'які можуть бути розділені за формою. Найбільш частими у виробництві є такі форми, як сферичні, циліндричні, овальні та тубатини. Окремо виділяють капсули спеціальних форм, які широко застосовуються у дитячій практиці. У залежності від технології виробництва, м'які капсули

можуть бути зі швом або без нього. Безшовні м'які капсули вміщують від 0,1 до 1,5 мл, зшивні – до 7,5 мл суміші. . [48]

В даний час лікарська форма у вигляді желатинових капсул стала дуже популярною у виробників фармацевтичних препаратів, лікарів і споживачів, завдяки ряду позитивних характеристик. . [48]

До них, зокрема, належить:

- Висока біологічна доступність. Дослідження показали, що м'які капсули швидше розпадаються в організмі людини, ніж таблетки, а їх рідкий вміст швидше і легше абсорбується. Відповідно фармакологічна дія лікарської речовини виявляється вже за 4-5 хвилин. Лікарська речовина інкапсульована в оболонку м'яких капсул може бути рідкою або малорозчинною у воді.

- Висока точність дозування. Однорідність вмісту $\pm 5\%$ досягається при застосуванні ротаційного способу виробництва м'яких желатинових капсул.

- Естетичність і коригуюча здатність - виключається неприємний смак і запах лікарського речовини, що особливо важливо в педіатрії.

- Менша кількість допоміжних речовин при виготовленні капсул, ніж, наприклад, при виробництві таблеток. У м'яких капсулах можна розфасовувати препарати в незмінному вигляді, не піддаючи їх вологій грануляції та впливу тепла, як при виробництві таблеток.

Недоліком желатинових капсул є їх висока чутливість до вологи, що вимагає дотримання певних умов їх зберігання і введення до складу оболонки консервантів. [48]

Для виробництва лікарського засобів м'яких желатинових капсулах використовується обладнання, яке наведене на рисунку 1.7.



Рис. 1.7 Обладнання для виготовлення м'яких желатинових капсул з наповнювачем

Виробництво лікарських засобів, зокрема вітаміну D у складі м'яких капсул, регулюються суворими нормативними документами, які забезпечують їхню якість, безпечність та ефективність.

У світовій практиці одним з найважливіших документів, що визначає вимоги до виробництва і контролю якості лікарських засобів для людини і тварин, є «Правила виробництва лікарських засобів» - «Good Manufacturing Practice for Medicinal Products (GMP)». [43, 44, 45, 47]

Вони спрямовані на забезпечення високого рівня якості та безпеки лікарських засобів і гарантування того, що лікарський засіб виготовлено відповідно до своєї формули (складу), не містить сторонніх включень, марковано належним чином, упаковано і зберігає свої властивості протягом усього терміну придатності. [43, 44, 45, 47]

Правила GMP встановлюють вимоги до системи управління якістю, контролю якості, персоналу, приміщень та обладнання, документації,

виробництва продукції та проведення аналізів за контрактами, рекламаціями, порядку відкликання продукції і організації самоінспекцій. [43, 44, 45, 47]

При виробництві лікарського засобу керуються не тільки системою Належною виробничої практики (GMP), а також ще Державною фармакопеею України (ДФУ), Державними стандартами України (ДСТУ), Європейською фармакопеею (EP) та при необхідності фармакопеями інших країн. [43, 44, 45, 47]

Дослідження капсул м'яких із вітаміном D потребує застосування комплексної методики, спрямованої на забезпечення їх відповідності нормативним вимогам та високим стандартам якості. Для цього застосовують фізико-хімічні, фармакологічні, мікробіологічні та аналітичні методи, які дозволяють контролювати властивості капсул на всіх етапах виробництва і зберігання. [43, 44, 45, 47]

Застосування методик є необхідним для підтвердження відповідності кінцевого продукту вимогам Державної фармакопеї України та міжнародних стандартів GMP.

Виробництво желатинових капсул - складний технологічний процес, що проходить такі стадії:

- Приготування желатину: цей етап включає виробництво желатинової маси шляхом розчинення желатину у воді та додавання гліцерину або сорбіту як пластифікаторів. Потім композицію піддають процесам нагрівання та гомогенізації до робочих рівнів в'язкості та густоти.
- Виготовлення листів желатину: отримана маса желатину потім пресується через ротаційне обладнання та перетворюється на 2 листи.
- Наповнення: Це робиться шляхом дозування олії, суспензії або розчину між двома листами желатину.
- Інкапсуляція: м'які желатинові капсули виготовляються шляхом вирізання та запечатування наповнювача за допомогою листів желатину, які обертаються.

- Висушування: щойно сформовані капсули з м'якою оболонкою сушать у визначених умовах до бажаної твердості та стабільності.
- Контроль якості: склади капсул піддаються серії суворих випробувань, які включають визначення витоку капсул, рівномірності наповнення та потужності
- Вивантаження: готовий продукт прийнятий на упаковку і готовий до відправлення. [46]

Контроль якості м'яких капсул

Ідентифікація. Проводять визначення наявності всіх діючих речовин і антимікробних консервантів, що входять до складу препарату. Згідно ДФУ 2.2.29 час утримування основного піку на хроматограмі випробуваного розчину має відповідати часу утримування основного піку на хроматограмі розчину порівняння (а) в випробуванні «Кількісне визначення».

Вміст діючої речовини в капсулі. Якщо немає інших указівок в окремій статті, відхилення у вмісті діючих речовин при дозуванні менше 1 мг мають складати $\pm 15\%$, від 1 до 10 мг - $\pm 10\%$, від 10 до 100 мг - $\pm 7,5\%$ та від 100 мг і більше - $\pm 5\%$.

У м'яких капсулах, вміст яких являє собою масла або масляні розчини, додатково контролюють кислотне і перекисне числа.

Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Проводиться згідно з методикою ДФУ (п. 2.9.40). Допустиме відхилення не повинно перевищувати 10 % при середній масі менше 300 мг і 7,5 % для капсул із середньою масою 300 мг і більше.

Однорідність вмісту. Проводиться згідно з методикою ДФУ (п. 2.9.5). Препарат відповідає вимогам, якщо вміст не більше як в одній однодозовій одиниці виходить за межі 85—115 % і в жодній одиниці не виходить за межі 75—125 % від середнього вмісту в препараті.

Розпадання. Тверді і м'які капсули мають витримувати випробування на розпадання таблеток або капсул, метод якого наведений у ДФУ (п. 2.9.1).

Розчинність. Випробування може бути проведене для підтвердження відповідного вивільнення діючої речовини або речовин одним із способів, описаних у статті ДФУ тест «Розчинення» для твердих дозованих форм (п. 2.9.3). Якщо проводять випробування за показником «Розчинність», випробування на «Розпадання» не вимагається.

В'язкість. Випробування проводиться відповідно до вимог ДФУ п. 2.2.10

Упаковка і маркування. Капсули повинні випускатися в щільно закритій упаковці, яка захищає від дії вологи. Поверхня капсули може бути маркована. На упаковці зазначають назву всіх антимікробних консервантів, що входять до складу.

Зберігання. Капсули слід зберігати в щільно закупорених контейнерах при температурі не вище 30 °С або відповідно до вказівки нормативно-технічної документації на препарат.

Висновки до розділу 1

В даному розділі наведено загальна характеристика, важливість та джерела отримання вітаміну D для організму.

Був також проведений аналіз наукових літературних даних які описують способи отримання вітаміну D за допомогою біотехнологічних методів, також наведено технологічний процес отримання холекальциферолу за допомогою мікроорганізму, та хімічного синтезу та наведено послідовні реакцій хімічного перетворення.

Систематизовано інформацію щодо отримання та вимог до м'яких желатинових капсул, контроль їх якості.

Інформація про ефективність джерела виробництва, методи синтезу та властивості м'яких капсул є основою для подальшого дослідження їх виробничих особливостей.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика об'єктів дослідження

Холекальциферол (EP 11 th. ed. №0575)

Холекальциферол, представлений у формі порошку та концентрату. В свою чергу концентрат холекальциферола поділяється на порошкову та масляну форму.

Розчин холекальциферолу у відповідній рослинній жирній олії, дозволений компетентним органом.

Вміст: від 90,0% до 110,0% вмісту холекальциферолу.

Він може містити відповідні стабілізатори, такі як антиоксиданти.

Опис. Прозора жовта рідина

Розчинність. Практично нерозчинний у воді, слабозрозчинний у безводному етанолі, змішується з розчинниками жирів.

CAS Registry Number. 67-97-0

Синоніми. 5,7,10(19)-холестатрієн-3β-ол-9,10-секо-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-трієн-3β-ол 9,10-секохолеста-5,7,19(19)-трієн-3-ол (3β,5z,7e)-холециферол

Латинська назва. Colecalciferol

Молекулярна формула. C₂₇H₄₄O

Відносно молекулярна маса. 384,64

Точка плавлення. 83-86 °C

Стабільність. При контакті з повітрям сильно окислюється. Під УФ-променями речовина деградує. Забезпечено від температури може відбуватися часткове зазвердіння.

Несумісність. Сильні окислювачі, кислоти, основи, відновники, ангідриди кислот, хлорангідриди.

Кислотне число. Максимум 2,0.

Пероксидне число. Максимум 20,0.

Ідентифікація. Тонкошарова хроматографія. Ультрафіолетова та видима абсорбційна спектрофотометрія

Зберігати в прохолодному, сухому та вентильованому місці подалі від джерел тепла та захищеному від сонячного світла в щільно закритій оригінальній упаковці. Звести до мінімуму контакт з повітрям. Не залишати контейнер для матеріалу відкритим. Зберігати в захищеному від світла, тепла, іскор, джерел займання та несумісних матеріалів. Уникати контакту зі шкірою та очима. Не зберігати з несумісними матеріалами. Зберігати під замком. Зберігання: від 2 °C до 8 °C

ДОПОМІЖНІ РЕЧОВИНИ

В якості допоміжних речовин можуть бути в залежності від виробника.

Наприклад в лікарському засобі під торговою маркою «Відеїн» виробника АТ «Київський Вітамінний Завод», Україна допоміжними речовинами є α -токоферолу ацетат та тригліцериди середнього ланцюга, і вони входять до складу наповнювача, також допоміжними речовинами є желатин, гліцерин та вода очищена, вони входять до складу оболонки капсули.

В якості допоміжної речовина яка може додаватися до наповнювача можу бути наприклад ще олія арахісова як в лікарському засобі під торговою маркою Декрістол виробник мібе ГмбХ Арцнайміттель, Німеччина.

Титану диоксиду, оксид заліза червоний та/або оксид заліза жовтий також виступають допоміжними речовинами, але в складі оболонки капсули і виконують роль барвника, як в лікарському засобі під торговою маркою Cholecalciferol Teva 20 000 IE, zachte capsules виробник Нідерланди.

Термін «наповнювач» означає практично безводний матеріал (зазвичай менше приблизно 10% води), який містить щонайменше одну активну сполуку та необов'язкову кількість співрозчинників, буферів, поверхнево-активних речовин, загусників тощо. Матеріал наповнювача може мати тверду, напівтверду, гелеподібну або рідку форму, за умови, що він сумісний із м'якою желатиною капсулою, щоб він не порушував суттєво м'яку желатинову оболонку.

Допоміжні речовини - будь-які складові лікарського препарату, за винятком діючих речовин, що дозволені для застосування в медицині. При виробництві ліків можуть виконувати різноманітні функції: носіїв (мазевих та супозиторних основ), емульгаторів, загусників, стабілізаторів, солюбілізаторів, пролонгаторів, плівко- та піноутворювачів, консервантів, пропілентів, пенетрантів, барвників; використовуватися для покриття оболонками таблеток, драже, гранул тощо та суттєво впливати на їх основні технологічні, споживчі, економічні характеристики та фармакологічну ефективність.

Допоміжні речовини у виробництві м'яких лікарських форм призначені забезпечити масі для капсулювання необхідні технологічні властивості, точність дозування, механічну міцність, розпадання, розчинення готових форм, тощо.

Вимоги до допоміжних речовин:

- мають бути хімічно індиферентними;
- мають відповідати призначенню фармацевтичного препарату (забезпечувати прояв належної лікувальної дії активних фармацевтичних інгредієнтів з урахуванням їх фармакокінетики та фармакодинаміки);
- мають відповідати формотворчим властивостям (фізико-хімічним, структурно-механічним, органолептичним та інше) лікарської форми;
- мають забезпечувати необхідну (бажану) біологічну доступність активних фармацевтичних інгредієнтів;
- мають не виявляти непередбаченої хімічної або фізико-хімічної взаємодії з активними фармацевтичними інгредієнтами, пакувальними матеріалами, а також матеріалами технологічного устаткування у процесі виробництва (виготовлення) фармацевтичного препарату;
- не повинні підвищувати мікробну контамінацію фармацевтичного препарату, до складу якого вони входять;

- не мають чинити негативний вплив на організм пацієнта.

Для отримання капсул використовували наступні допоміжні речовини.

Тригліцериди середнього ланцюга (EP 11 th. ed. №0868)

Використовують у складі косметичних засобів та фармацевтичних препаратів для перорального, парентерального та місцевого застосування. Входять до складу емульсій, мікроемульсій, самоемульгуючих систем, розчинів та суспензій як емульгатор, розчинник та суспендуючий агент для АФІ, які нестабільні або нерозчинні у водних середовищах, наприклад кальциферол; входять до складу капсул та таблеток як наповнювачі, ковзкі речовини та підсилювачі кишкової абсорбції. Із терапевтичною метою використовують як поживні речовини та джерело жирів у складі дієтичних продуктів для перорального та парентерального харчування для хворих із порушенням всмоктування жирів при муковісцидозі (тригліцериди середнього ланцюга більш легко перетравлюються, ніж тригліцериди довгого ланцюга).

Речовини цієї групи є стабільними при зберіганні в широкому діапазоні температур, однак в ідеалі їх необхідно зберігати при температурі не вище 25 °C і не піддавати впливу температур >40 °C протягом тривалого часу. При низькій температурі вони можуть ставати в'язкими або затвердівати, тому перед використанням їх необхідно добре розплавити та ретельно перемішати. При виробництві емульсій слід уникати мікробіологічного забруднення, тому що ліпазпродукуючі мікроорганізми можуть викликати гідроліз тригліцеридів. Тригліцериди середнього ланцюга можуть бути простерилізовані шляхом нагрівання до 170 °C протягом 1 год. Вони нетоксичні та не викликають подразнення.

CAS Registry Number: 73398-61-5.

Відносна молекулярна маса: ≈ 500 (середня).

Фізико-хімічні властивості:

Опис:

Безбарвна або злегка жовтувата масляниста рідина, яка практично не має запаху та смаку. Застигає приблизно при 0 °C. Суміш тригліцеридів насичених

жирних кислот в основному з каприлової та капринової кислот містить не менше 95% насичених жирних кислот.

Розчинність:

Розчинний у всіх пропорціях при 20 °С в ацетоні, бензолі, 2-бутаноні, чотирихлористому вуглеці, хлороформі, дихлорметані, етанолі, етанолі (95%), ефірі, етилацетаті, петролейному ефірі, спеціальному петролейному спирті (діапазон кипіння 80–110 °С), пропані -2-ол, толуол і ксилол. Змішується з довголанцюговими вуглеводнями та тригліцеридами; практично нерозчинний у воді.

Температура замерзання:

Температура замерзання 5 °С для Neobee M5

Щільність:

0.94–0.96 g/cm³ for Crodamol GTC/C at 20 °С;

0.94–0.95 g/cm³ for Miglyol 810 at 20 °С;

0.94–0.95 g/cm³ for Miglyol 812 at 20 °С;

0.94 g/cm³ for Neobee M5 at 20 °С.

Гідроксильне число: ≤8.

Йодне число: ≤0,5-1,0.

Пероксидне число: ≤0,5-1,0.

Число омилення: 325-345.

Вологовміст: ≤0,15%.

Показник заломлення: 1,4485-1,4500.

Поверхневий натяг: 31,1-32,3 мН/м.

В'язкість динамічна: 27-30 мПа.

Желатин (EP 11 th. ed. №0330)

Желатин — це загальний термін для суміші очищених білкових фракцій, отриманих частковим кислотним гідролізом (желатин типу А) або частковим лужним гідролізом (желатин типу В) тваринного колагену, отриманого з кісток великої рогатої худоби та свиней, шкіри великої рогатої худоби, свинячої шкіри та риби. Желатин також може бути сумішшю обох типів.

Білкові фракції майже повністю складаються з амінокислот, з'єднаних амідними зв'язками з утворенням лінійних полімерів.

Желатин широко використовується в різноманітних фармацевтичних композиціях, включаючи його використання як біорозкладаного матричного матеріалу в імплантованій системі доставки, хоча найчастіше він використовується для формування твердих або м'яких желатинових капсул.

Желатинові капсули — це стандартні лікарські форми, призначені переважно для прийому всередину. М'які капсули на ринку також включають капсули для ректального та вагінального введення. Тверді капсули можуть бути наповнені твердою (порошки, гранули, гранули, таблетки та їх суміші), напівтвердою та рідкою начинкою, тоді як м'які капсули в основному наповнені напівтвердою або рідкою начинкою. У твердих капсулах активна речовина завжди міститься в наповнювачі, тоді як у м'яких капсулах лікарська речовина також може бути включена в товсту м'яку оболонку капсули. Желатин розчиняється в теплій воді ($>30^{\circ}\text{C}$), і желатинова капсула спочатку набухає, а потім розчиняється в шлунковій рідині, щоб швидко вивільнити її вміст.

CAS Registry Number: 9000-70-8.

Відносна молекулярна маса: Від 20 000 до 200 000.

Фізико-хімічні властивості:

Опис:

Желатин має форму крихкої склоподібної речовини від світло-янтарного до блідо-жовтого кольору. Він практично не має запаху і смаку і доступний у вигляді напівпрозорих листів, пластівців і гранул або у вигляді грубого порошку.

Розчинність:

Практично нерозчинний в ацетоні, хлороформі, етанолі (95%), ефірі та метанолі. Розчинний у гліцерині, кислотах та лугах, хоча сильні кислоти та луги викликають утворення осаду. У воді желатин набухає і розм'якшується, поступово поглинаючи воду в п'ять-десять разів більше своєї ваги. Желатин

розчиняється у воді вище 40 °С, утворюючи колоїдний розчин, який желатинується при охолодженні до 35-40 °С. Ця система гель-золь є тиксотропною та термооборотною, температура плавлення дещо вища за задану температуру; температуру плавлення можна змінювати додаванням гліцерину.

Щільність:

1.32 g/cm³ for type A;

1.28 g/cm³ for type B.

Гліцерин (EP 11 th. ed. №0496)

Гліцерин використовується в широкому спектрі фармацевтичних препаратів, включаючи пероральні, отічні, офтальмологічні, місцеві та парентеральні препарати.

У місцевих фармацевтичних композиціях і косметиці гліцерин використовується головним чином через його зволожувальні та пом'якшувальні властивості. Гліцерин використовується як розчинник або співрозчинник у кремах і емульсіях. Гліцерин додатково використовується у водних і неводних гелях, а також як добавка в пластирах. У парентеральних препаратах гліцерин використовується в основному як розчинник і співрозчинник. У пероральних розчинах гліцерин використовується як розчинник, підсолоджувач, антимікробний консервант і агент, що підвищує в'язкість. Він також використовується як пластифікатор і в плівкових покриттях.

Гліцерин використовується як пластифікатор желатину при виробництві м'яких желатинових капсул і желатинових супозиторіїв.

Гліцерин використовується як терапевтичний засіб у різноманітних клінічних застосуваннях, а також використовується як харчова добавка.

CAS Registry Number: 56-81-5.

Відносна молекулярна маса: 92.09.

Фізико-хімічні властивості:

Опис:

Гліцерин — прозора безбарвна в'язка гігроскопічна рідина без запаху; він має солодкий смак, приблизно в 0,6 рази солодший за сахарозу.

Розчинність:

Змішується з водою, етанолом, метанолом у будь-яких співвідношеннях, мало розчинний в ацетоні, етилацетоні (1 : 11), практично нерозчинний в етері (1 : 500), хлороформі й жирних оліях.

Температура кипіння: 290 °C (з розкладанням).

Температур плавлення: 17,8 °C

Щільність:

1.2656 g/cm³ at 15 °C

1.2636 g/cm³ at 20 °C;

1.2620 g/cm³ at 25 °C.

Гігроскопічність: Гігроскопічний.

Вода очищена (ДФУ 1.1, с. 308-309).

Вода очищена є однією з категорій води, що використовуваної в фармацевтичній промисловості. Вона використовується у виробництві лікарських засобів для розведення/розчинення субстанцій або препаратів для парентерального введення перед застосуванням.

За хімічною структурою вода являє собою оксид водню. Зв'язок в молекулі надзвичайно міцний, речовина дуже стійка.

За фізичними властивостями вода очищена – безбарвна прозора рідина без запаху та смаку, нейтральної реакції. Вона вільна від хімічних та біологічних домішок (солей, газів, пірогенів, мікроорганізмів, інших домішок).

Як правило, фармацевтичні підприємства використовують в своїх цілях воду очищену власного виробництва. Відповідно до Європейської Фармакопеї єдиним способом отримання води очищеної є дистиляція. Даний метод має ряд надійних експлуатаційних характеристик та може бути валідований як окрема операція. Дистиляція є ефективним способом зменшення у воді кількості основних забруднюючих речовин та виробництва води з низькими

показниками електропровідності, загального органічного вуглецю, бактеріального числа та рівня ендотоксинів.

2.2. Методи дослідження

Опис.

Загальні вимоги до зовнішнього вигляду м'якої капсули прописані в ДФУ в розділі «Загальні статті на лікарські форми». Спеціальні вимоги можуть бути визначені у відповідних нормативних документах або специфікаціях виробника, які підтверджуються під час реєстрації лікарського засобу.

Розпадання.

Не більше 30 хв (ДФУ, 2.9.1).

В якості рідкого середовища використовують *воду Р*. В кожну скляну трубку поміщають диск. Прилад включають на 30 хв., досліджують стан м'яких желатинових капсул.

Однорідність маси вмісту капсул.

Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.9.5.

Точно зважують кожну з 10 відібраних капсул для одержання їх брутто-мас, ретельно стежачи за їх цілісністю. Розрізають капсули за допомогою сухого та чистого інструмента, що ріже, наприклад ножиць або скальпеля, фф вимивають вміст підходящим розчинником, *гексаном Р* або *96% спиртом Р*. Дають можливість розчиннику випаруватися при кімнатній температурі з поверхні оболонки протягом 30 хв, уникаючи поглинання або втрати вологи. Кожну оболонку окремо зважують і розраховують масу вмісту в кожній капсулі (нетто-масу). Розраховують вміст діючої речовини в кожній капсулі виходячи з витягнутої з капсули індивідуальної маси та результату кількісного визначення.

Міцність

В ДФУ не прописані конкретні вимоги до міцності м'яких желатинових капсул, але згідно наукових літературних даних цей показник повинен бути в

межах 10-14 Н/20с. Випробування проводиться на обладнанні, де за допомогою голки – стрижень відбувається надавлювання на оболонку на протязі 20 с, і за допомогою датчиків відбувається фіксування максимального навантаження на капсулу.

В'язкість

Випробування в'язкості проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.2.10, метод ротаційної віскозиметрії (Віскозиметри з обертовим стрижнем). Випробування проводиться на ротаційному віскозиметрі з використанням коаксіального циліндра (№ 28) (кутова швидкість від 10 до 20 об/хв.; значення крутного моменту не менше 10 %, температура 60 °С).

Кількісне визначення

Визначення проводять методом рідинної хроматографії згідно ДФУ, 2.2.29. Метод полягає в порівнянні досліджуваного розчину з розчинами порівняння за часом утримання до основного піку.

Висновок до розділу 2

У цьому розділі визначено об'єкти дослідження — м'які капсули з вітаміном D, а також описані методики їх аналізу. Використані методи дозволяють комплексно оцінити якість капсули та їх відповідність нормативним вимогам.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Обґрунтування складу оболонки капсули

Традиційно до складу м'якої желатинової оболонки входять такі компоненти як желатин, пластифікатор та вода очищена. Аналізуючи склади лікарських засобів, які представлені на ринку, встановлено, що як пластифікатор частіше використовують гліцерин. Тому ми обрали гліцерин як пластифікатор. Гліцерин покращує еластичність та міцність оболонки, за рахунок різного співвідношення з желатином можна коригувати твердість м'якої капсули, гліцерин є нетоксичним пластифікатором, що покращує сумісність з активними фармацевтичними інгредієнтами і також він являється відносно дешевшим від інших пластифікаторів. Тобто дозволяє капсулам мати задовільні органолептичні властивості.

При виробництві м'яких капсул важливим показником, що впливає на якість є товщина желатинової стрічки, яка формує оболонку капсули.

Даний показник впливає на розпадання та міцність капсули. На товщину желатинової стрічки впливає в'язкість желатинового розчину та співвідношення компонентів желатинової оболонки.

Тому метою подальших досліджень було вивчення впливу в'язкості желатинового розчину на товщину желатинової стрічки. Для напрацювання готували зразки із різним співвідношенням компонентів: води, желатину та гліцерину.

З літературних даних відомо, що вміст желатину в оболонці м'якої желатинової капсули може варіюватися від 35 % до 45 %, гліцерину від 15 до 25 %, а води очищеної відповідно від 30 % до 40 %.

На основі цих даних було розроблено 3 варіанти співвідношень, які наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Співвідношення компонентів для м'якої желатинової капсули

Варіант	Желатин, %	Гліцерин, %	Вода очищена, %	В'язкість, Па/с
1	35	25	40	5000
2	40	20	40	12000
3	45	15	40	20000

Випробування в'язкості проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.2.10, метод ротаційної віскозиметрії.

Також зразки аналізували за показниками міцність, товщина оболонки та час розпадання. Результати наведені у табл.3.2.

Таблиця 3.2

Результати досліджень співвідношення компонентів

Варіант	Товщина желатинової оболонки	Розпадання	Міцність
1	0,9 мм	15,5 хв	10,005 Н/20с
2	0,7 мм	13,3 хв	12,135 Н/20с
3	0,6 мм	17,1 хв	14,360 Н/20с

Як видно з отриманих даних, гід час напрацювання серії складу 1 з в'язкістю 5 000 Па/с виникла проблема з рівномірним розподілом, що вплинуло на товщину та міцність. Желатинова стрічка була тонкою, що призводило до утворення розривів в різних місцях желатинової стрічки.

Під час напрацювання серії з в'язкістю желатину 12 000 Па/с таких проблем не виникало, і товщина стрічки була рівномірною на протязі всього напрацювання.

Під час напрацювання серії з в'язкістю желатинового розчину 20 000 Па/с також були проблеми з товщиною желатинової стрічки. Але якщо при в'язкості желатину в 5 000 Па/с желатинова стрічка була дуже тонкою і

утворювалися розриви, то при 20 000 Па/с проблема була в тому, що желатинова стрічка виходила більш товстіша і не рівномірна товщина була по всій желатиновій стрічці.

Згідно ДФУ лікарський засіб повинен розпадатися не більше ніж 30 хв, згідно літературних даних рекомендовано, щоб міцність знаходилась в межах 10-14 Н/20с, а товщина желатинової оболонки $0,7 \text{ мм} \pm 0,2 \text{ мм}$.

Тому на підставі проведених досліджень обрано склад желатинового розчину із в'язкістю в 12 000 Па/с з співвідношенням компонентів желатину:гліцерину:води очищеної відповідно 40:20:40.

З огляду на вищесказане до складу розроблюваного лікарського засобу входять типові представники різних груп допоміжних речовин, класифікованих за їх функціональним призначенням.. Присутні компоненти описані в провідних фармакопеях світу та традиційно використовуються в процесі виробництва м'яких желатинових капсул.

3.2 Вибір наповнювача капсул з вітаміном D

На фармацевтичному ринку холекальциферол представлений у формі олійного розчину та порошку.

Для теоретичного обґрунтування складу м'яких капсул з вітаміном D, зокрема вибору діючої речовини, було проведено аналіз літературних наукових джерел щодо характеристик властивостей холекальциферолу у формі порошку та олійного розчину.

Встановлено, що за рахунок високої біодоступності, стабільності та економії ресурсів під час виробництва, доцільним є використання у складі м'яких капсул саме олійного розчину холекальциферолу.

На наступному етапі, враховуючи можливості обладнання, необхідно було обрати допоміжну речовину для м'яких капсул.

При аналізі складу лікарських форм, які представлені на фармацевтичному ринку, частіше в якості допоміжних речовин використовують арахісову олію та тригліцериди середнього ланцюга.

Але після аналізу літературних джерел про властивості арахісової олії було встановлено, що вона проявляє алергенний ефект. Американські дослідження показали, що алергія на арахіс у одnorічних дітей зросла від 1,7% до 5,2%, яка зберігається в більшості випадків і в дорослому віці. Тому за наведеними даними арахісова олія не розглядається як допоміжна речовина при розробці лікарського засобу

Ознайомивши з технологічними можливостями обладнання, мінімальна межа вприскування активного фармацевтичного інгредієнта та допоміжної речовини (далі – наповнювач) в капсулу складає 100 мг.

Кількість олійного розчину холекальциферолу обрано 10 000 МО, що відповідає 10,0 мг на одну капсулу.

Згідно даних, як наведено вище, склад на 1 капсулу наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Склад на 1 капсулу м'яку

Назва	Кількість на 1 капсулу, мг
Активний фармацевтичний інгредієнт	
Холекальциферол	10,0
Допоміжна речовина	
Тригліцериди середнього ланцюга	90,0
Всього	100

Під час технологічного процесу відбувався контроль такого показника як однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Згідно ДФУ (п. 2.9.40) допустиме відхилення не повинно перевищувати 10 % при середній масі менше 300 мг. Але на підприємстві для точнішого наповнення капсули орієнтуються на менше відсоткове відхилення яке становить 7,5 %.

Тобто кількість наповнювача в капсулі при наповнюванні в 100 мг повинна становити від 92,5мг і до 107,5 мг.

Під час зважування 50 капсул, з масою наповнювача в 100 мг, з них 29 капсул виходили за межу встановленого діапазону, що перевищує 50 %.

Можлива причина такого розходження при наповненні в технічних можливостях обладнання. Тому для більш точнішого наповнення було розроблено новий склад на 1 капсулу, де кількість діючої речовини залишається не змінною, а кількість допоміжної речовини збільшено (табл. 3.4)

Таблиця 3.4

Склад на 1 капсулу м'яку

Назва	Кількість на 1 капсулу, мг
Активний фармацевтичний інгредієнт	
Холекальциферол	10,0
Допоміжна речовина	
Тригліцериди середнього ланцюга	115,0
Всього	125

Відповідно кількість наповнювача в капсулі при наповнюванні в 125 мг повинна становити від 115,625 мг і до 134,375 мг.

Під час зважування 50 капсул, з них 3 капсул виходили за межу встановленого діапазону, що не перевищує 10 %.

Тому на підставі проведених досліджень обрано склад де кількість діючої речовини 10 мг, а допоміжної речовини 115 мг.

Згідно вимог ДФУ м'які желатинові капсули повинні розпадатись не більш ніж за 30 хв.

Міцність повинна бути в межах 10-14 Н/20с.

Для підтвердження отриманих результатів, було напрацьовано ще 2 серії за таким самим складом, результати наведені в таблиці 3.5

Таблиця 3.5

Порівняння серій

Показник	Серія 1	Серія 2	Серія 3
Опис	Овальні прозорі капсули, світло-жовтого кольору, без включень, оболонка ціла	Овальні прозорі капсули, світло-жовтого кольору, без включень, оболонка ціла	Овальні прозорі капсули, світло-жовтого кольору, без включень, оболонка ціла
Міцність, Н/20с	12,135	11,960	12,545
Товщина оболонки, мм	0,7	0,8	0,7
Розпадання, хв	13,3	13,5	12,8
Однорідність маси вмісту капсули, мг	124,968	125,094	124,633
Кількісний вміст, МО	10 045	9 754	10 103

Згідно отриманих даних всі три серії відповідають встановленим межам за всіма показниками. Можна зробити висновок що розроблена рецептура задовольняє вимоги і може бути запровадженою на виробництві. Склад наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Склад на 1 капсулу

Назва	Кількість на 1 капсулу, мг
Діюча речовина	
Холекальциферол масляна форма	10 *
Допоміжні речовини	
Тригліцериди середнього ланцюга	115
Всього	125
Компоненти оболонки	
Желатин	40
Гліцерин	20
Вода очищена	40**
Всього	100

* - 10 мг еквівалентно 10 000 МО.

** - видалається в ході технологічного процесу.

Висновки до розділу 3

Теоретично та експериментально обґрунтовано склад оболонки капсул з вітаміном D. Доведено, що оптимальним складом оболонки є суміш желатину, гліцерину та води очищеної відповідно у співвідношенні 40:20:40.

Обґрунтовано обрано наповнювач тригліцериди середнього ланцюга на підстав аналізу наукових літературних даних.

Розроблено оптимальний склад м'яких капсул з вітаміном D. Отримані дані служать основою для подальшого вдосконалення технології виробництва та забезпечення високої якості готового продукту.

ВИСНОВКИ

У ході роботи було проаналізовано наукові літературні дані про загальну характеристику вітаміну D, способи отримання його через раціон харчування. Також розглянуто отримання саме холекальциферолу біотехнологічним методом, за допомогою культивування дріжджів, зокрема *Saccharomyces cerevisiae* та бактерії, як от *Actinomyces hyovaginalis*, та за допомогою хімічного синтезу.

Ознайомилася з нормативними вимогами по створенню лікарських форм у вигляді м'яких капсул та методами їх контролю під час виробництва.

Проведено дослідження по створенню м'яких желатинових капсул з активним фармацевтичним інгредієнтом холекальциферол у вигляді олійного розчину. Доведено, що оптимальним складом оболонки є суміш желатину, гліцерину та води очищеної відповідно у співвідношенні 40:20:40.

Отримані результати показали, що запропонована рецептура виробництва досягає високих стандартів якості. Це створює можливості для застосування досліджених підходів у промисловому виробництві препаратів, спрямованих на усунення дефіциту вітаміну D серед населення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Горобець А.О. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків. *Український журнал перинатологія і педіатрія*. 2019. 4(80). С. 75-92.
2. Товстолистка Н. Вітамін D - чи все так просто, як здається?. *Міжнародний журнал ендокринології*. 2019. Т. 15, № (4). С. 334-338.
3. Relation of vitamin D level to maximal oxygen uptake in adults / Ardestani A. et al. *The American Journal of Cardioloy*. 2011. Vol. 107. P. 1246-1249
4. The effects of indoor and outdoor sports participation and seasonal changes on vitamin D levels in athletes / C. G. Aydin et al. *SAGE Open Medicine*. 2019. Vol. 7. DOI: <https://doi.org/10.1177/2050312119837480> (Date of access: 03.12.2024).
5. Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An update on vitamin D metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21(18). P. 65-73.
6. Alonso N, Zelzer S, Eibinger G, Herrmann M. Vitamin D Metabolites: Analytical Challenges and Clinical Relevance. *Calcif Tissue Int*. 2023. Vol. 112(2). P. 158-177.
7. Bikle DD. Vitamin D: Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level. *J Endocr Soc*. 2020. Vol. 4(2). P. bvz038.
8. Carlberg C. Vitamin D in the Context of Evolution. *Nutrients*. 2022. Vol. 14(15). P.3018-3020.
9. Tuckey R. C, Cheng CYS, Slominski A. T. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019. Vol. 186. P. 4-21.
10. Japelt R. B., Jakobsen J. Vitamin D in plants: A review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front. Plant Sci*. 2013. Vol. 4. Article. P. 00136.
11. Umar M., Sastry K. S., Chouchane A. I. Role of Vitamin D Beyond the Skeletal Function: A Review of the Molecular and Clinical Studies. *Int J Mol Sci*. 2018. Vol. 19(6). P. 1618.

12. Поворознюк В.В., Балацька Н.І. Дефіцит вітаміну D у населення України та чинники ризику його розвитку. *Репродуктивна ендокринологія*. 2013. № 5(13). С. 7–13.
13. Craveiro V, Araújo J, Santos A, Ramos E. Vitamin D - From the pro-hormone to the biological actions. *Acta portuguesa de nutrição*. 2019. Vol.19. P. 50-54.
14. Gil Á., Plaza-Diaz J., Mesa M. D. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab*. 2018. Vol. 72(2). P. 87-95.
15. Skeletal and Extraskeletal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions / R. Bouillon et al. *Endocr Rev*. 2019. Vol. 40(4). P. 1109-1151.
16. Marino R, Misra M. Extra-Skeletal Effects of Vitamin D. *Nutrients*. 2019. Vol. 11(7). P. 1460.
17. Hanel A, Malmberg HR, Carlberg C. Genome-wide effects of chromatin on vitamin D signaling. *J Mol Endocrinol*. 2020. Vol. 64(4). P. 45-56.
18. The vitamin D receptor: contemporary genomic approaches reveal new basic and translational insights / J. W. Pike et al. *J Clin Invest*. 2017. Vol. 127(4). P. 1146-1154.
19. Żmijewski MA. Nongenomic Activities of Vitamin D. *Nutrients*. 2022. Vol. 14(23). P. 5104. DOI: 10.3390/nu14235104.
20. Бабієнко В. В., Шанигін А. В., Рожнова А. М. Нутритивна корекція дефіциту вітаміну D у дорослих: сучасні рекомендації. *Вісник Морської Медицини*. 2024. № 2 (103). С. 164-174.
21. Діагностика, профілактика та лікування дефіциту вітаміну D у дорослих / Н. В. Григор'єва та ін. *Консенсус українських експертів. Біль, суглоби, хребет*. 2023. № 13(2). С. 60-76.
22. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D. *Dermatoendocrinol*. 2013. Vol. 5(1): P. 51-108.
23. Vitamin D status in the population of the Western region of Ukraine / V. Pankiv et al. *International Journal Of Endocrinology*. 2019. Vol. 15(3). P. 268-271.

24. Vitamin D in foods: An evolution of knowledge / J. M. Roseland et al. *Vitamin D*. 2018. Vol. 2. P. 41-78.
25. Schiller L. J. Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption; Vitamin D2 Mushroom Powder. *DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Food and Drug Administration*. 2020. Vol. 85 (134). P. 41916-41920.
26. Borel P., Caillaud D., Cano N. J. Vitamin D bioavailability: State of the art. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015. Vol. 55. P. 1193-1205.
27. Including food 25-hydroxyvitamin D in intake estimates may reduce the discrepancy between dietary and serum measures of vitamin D status / C. L. Taylor et al. *J Nutr* 2014. Vol. 144. P. 654-659.
28. Vitamin D supplementation guidelines / P. Pludowski et al. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2018. Vol. 175. P. 125-135.
29. Vitamins. Vitamin D / I. Bendik et al. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 2019. P. 32-46.
30. Industrial-Scale Organic Solvent Nanofiltration for Dimer Impurity Removal: Enhancing Vitamin D3 Production / Jan Schütz et al. *Organic Process Research & Development*. 2024. Vol. 28(11). P. 4046-4058.
31. Arash Hossein-nezhad and Michael F. Holick. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Foundation for Medical Education and Research*. 2013 , Vol. 88. P. 720-755.
32. Holick, M.F. The One-Hundred-Year Anniversary of the Discovery of the Sunshine Vitamin D3: Historical, Personal Experience and Evidence-Based Perspectives. *Nutrients*. 2023. Vol. 15(3). Article. 593
33. Synthesis of cholesterol and vitamin D3 from phytosterols : pat. US 2022/0372065 A1 ; appl. 09.07.2019 ; publ. 24.11.2022.
34. Schmitz L. M., Kinner A., Althoff K., Rosenthal K., Lütz S. Investigation of Vitamin D2 and Vitamin D3 Hydroxylation by *Kutzneria albida*. *ChemBioChem*. 2021. Vol.22(13). P. 2266–2274.

35. Production of Vitamin D3 Enriched Biomass of *Saccharomyces Cerevisiae* as A Potential Food Supplement: Evaluation and Optimization of Culture Conditions Using Plackett-Burman and Response Surface Methodological Approaches / Mohajeri Amiri M. et al. *Iran J Pharm Res.* 2019. Vol. 18(2). P. 974-987.

36. Bioconversion of vitamin D3 into calcitriol by *Actinomyces hyovaginalis* isolate CCASU- A11-2 / A. M. Abbas. et al. *AMB Express.* 2023. Vol. 13(1). P. 73.

37. Eduardo I. Kessi-Pérez, Adens González, José L. Palacios, Claudio Martínez. Yeast as a biological platform for vitamin D production: A promising alternative to help reduce vitamin D deficiency in humans. *Production by Design in Yeast.* 2022. Vol. 39(9). P. 482-492.

38. Wang Y., Liu L., Jin Z. and Zhang D. Microbial Cell Factories for Green Production of Vitamins. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. Vol. 9. Article. 661562.

39. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system / Xu J. et al. *Mol Med Rep.* 2017. Vol. 16. P. 7432–7438.

40. Li L, Chen J, Jiang Y. The association between vitamin D level and Sjogren's syndrome: a meta-analysis. *Int J Rheum Dis* 2019. Vol. 22. P. 532-533.

41. Current challenges facing one-step production of l-ascorbic acid / P. P. Wang. et al. *Biotechnol Adv.* 2018. Vol. 36. P. 1882-1899.

42. Systematic characterization of sorbose/sorbosone dehydrogenases and sorbosone dehydrogenases from *Ketogulonicigenium vulgare* WSH-001 / P. P. Wang. et al. *J Biotechnol.* 2019. Vol. 301. P. 24-34.

43. Державна Фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

44. Державна Фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП

«Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

45. Державна Фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

46. Гладишев В. В., Александрова К. В. Фармацевтична технологія : навч. посіб. для практ. занять провізорів-інтернів спец. «Загальна фармація» Ч. II. 2-е вид., допрац. і допов. Запоріжжя, 2016. 88 с.

47. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 / ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». Офіц. вид. Київ : МОЗ України, 2020. 356 с.

48. Лікарський засіб у вигляді м'яких капсул для орального застосування, який містить симетикон : пат. 124257 Україна. № у 201711411 ; заявл. 21.11.2017 ; опубл. 26.03.2018, Бюл. № 6.

ДОДАТОК

Публікації за темою роботи



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що

Кулеш А. В.

**Науковий керівник:
Хохленкова Н. В.**

брав(ла) участь у роботі IV Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

10-11 грудня 2024 р.
м. Харків,
Україна

Висновки. В Україні складаються об'єктивні умови для відродження великотоварного промислового медоваріння. Проведене дослідження підтверджує перспективність розвитку виробництва медових вин, зокрема сікери, у зв'язку з підвищенням їх популярності на ринку. Важливими етапами виготовлення сікери є бродіння та дозрівання, на яких можна значно збільшити обсяги виробництва за рахунок впровадження сучасного емкісного обладнання. Запропоноване оновлення технічного парку шляхом заміни циліндро-конічного танка на новий інноваційний агрегат об'ємом 6000 літрів дозволить не лише збільшити обсяги випуску продукції, але й покращити її якість та оптимізувати виробничі процеси.

МЕТОДИ ОТРИМАННЯ ВІТАМІНУ D₃

Кулеш А. В.

Науковий керівник Хохленкова Н. В.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
anastasiia1v3k@gmail.com

Вступ. Вітамін D класифікують як жиророзчинний вітамін, який і виступає у функціональній ролі гормону. Його структура подібна до структури стероїдних гормонів.

Цей вітамін є важливим для здоров'я кісток, але останні дослідження також вказують на його важливу роль у функціях, не пов'язаних зі скелетом, таких як ріст скелетних м'язів, імунні та серцево-легеневі функції, а також модуляцію запальних процесів.

Тому його дефіцит може призвести до численних пошкоджень організму. У зв'язку з цим питанням ефективного отримання вітаміну D₃ залишається актуальним для медицини, фармації та харчової промисловості.

Мета дослідження. Проведення аналізу джерел наукової літератури щодо існуючих методів отримання вітаміну D₃.

Матеріали та методи. Контент-аналіз джерел наукової інформації.

Результати дослідження. Основним методом отримання вітаміну D₃ у промисловості є синтез із 7-дегідрохолестеролу, який отримують із ланоліну — природного компонента вовни овець. Процес включає ультрафіолетове опромінення, що спричиняє фотоізомеризацію, після чого проводиться термічна обробка для отримання стабільного холекальциферолу. Цей підхід дозволяє отримувати вітамін D₃ високої чистоти, придатний для фармацевтичного використання.

Попри переваги, зокрема контрольованість процесу та відповідність стандартам якості, значними недоліками є залежність від тваринної сировини та складність технологічного обладнання.

Хімічний синтез, що включає послідовне перетворення синтетичних попередників, є ще одним підходом до отримання вітаміну D₃. Цей метод має перевагу у можливості великомасштабного виробництва, однак екологічні ризики та висока енергоємність залишаються його обмеженнями.

Альтернативою є біотехнологічні методи, що базуються на використанні генетично модифікованих мікроорганізмів або рослинної сировини, багатой на попередники вітаміну D₃. Мікроорганізми можуть використовувати різноманітні субстрати, зокрема відходи сільського господарства та харчової промисловості. Це відкриває можливість інтеграції мікробного

синтезу у системи циркулярної економіки, що робить процес економічно вигідним і екологічно прийнятним.

Кожен з методів має свої переваги та недоліки. Але біотехнологічний метод виробництва кращий тим що він має можливість до масштабування, екологічний, забезпечує високу чистоту отриманого продукту, скорочення енергоспоживання, гнучкість в процесі модифікації.

Крім того, мікробний синтез дозволяє створювати веганські продукти, що відповідає зростаючому попиту на ринку. Оскільки такі продукти не містять компонентів тваринного походження, вони можуть бути використані у виробництві харчових добавок для широкого кола споживачів.

Висновки. Виробництво вітаміну D₃ продовжує розвиватися за рахунок поєднання біотехнологічних, фотохімічних та хімічних методів. Найперспективнішим напрямком є оптимізація біотехнологічного синтезу, який має потенціал стати екологічно чистою та економічно ефективною альтернативою традиційним технологіям. Це сприятиме задоволенню глобального попиту на вітамін D₃ та підвищенню його доступності.

ВИКОРИСТАННЯ КЛІТИННИХ ЛІНІЙ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПРИРОДНИХ РЕЧОВИН

Кушпа Р. О.

Науковий керівник: Філіпцова О. В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
philipstova@yahoo.com

Вступ. Використання клітинних ліній з кожним роком знаходить все більше і більше сфер використання: від дослідження вірусів, так і до виробництва інтерферонів. Окремим способом використання клітинних ліній є дослідження токсичності природних сполук *in vitro* з метою, щоб з'ясувати летальну концентрацію речовин, не ставлячи досліди на тваринах.

Мета дослідження. Ознайомлення із методикою дослідження токсичності деяких представників природних сполук на лінії клітин методом *in vitro*.

Матеріали та методи. Пошук актуальних джерел наукової літератури та аналітичний огляд висновків.

Результати дослідження. Культури клітин – це рослинні, тваринні або людські клітини, що були вирощені штучним шляхом в лабораторії, де мають бути створені оптимальні умови для розмноження. Різні спеціалізовані клітини можуть бути вирощені за допомогою різних методів.

Тести на цитотоксичність базуються на різних методах. Одним з найпоширеніших є колориметричний метод. Це оптичний метод, заснований на спостереженні за кольором досліджуваної суспензії. Абсорбція (поглинання світла при різних довжинах хвиль) використовуваних барвників вимірюється за допомогою спектрофотометра. Зразки вносяться мікропіпеткою в певні багатолункові планшети, найчастіше 96-лункові, які потім оцінюються зчитувачем у спектрофотометрі. Іншим методом є проточна цитофлуориметрія – метод підрахунку, аналізування та сортування клітин завислих у потоці рідини, яка досягла значного прогресу. У проточній цитометрії лазерний промінь використовується для визначення