

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «ОРГАНІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА АНТИБІОТИКА
ВАНКОМІЦИНУ»

Виконав: здобувачка вищої освіти 4 курсу групи
БТб(3,10д)-02

спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Біотехнологія

Інна ДАРІЙ

Керівник: Доцент закладу вищої освіти кафедри
промислової технології ліків та косметичних засобів,
к.фарм.н, доц. Антоніна СІЧКАР

Рецензент: Професор закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної технології, стандартизації та
сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації
спеціалістів фармації Національного фармацевтичного
університету, д.фарм.н., проф. Олег ШПИЧАК

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена удосконаленню технології виробництва антибіотика ванкоміцину для потреб фармацевтичної галузі. У роботі розглянуто особливості біосинтезу цільового продукту, обґрунтовано вибір штаму-продуцента *Amycolatopsis orientalis* (раніше *Streptomyces orientalis* КССМ-10836Р), склад поживного середовища, способи культивування, методи виділення та очищення ванкоміцину. Виконано розрахунки матеріального балансу, наведено схему виробництва, здійснено вибір технологічного обладнання та окреслено екологічні аспекти виробничого процесу. Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 87 сторінок, у тому числі 7 рисунків, 5 таблиць, 37 використаних джерел, 2 додатки.

Ключові слова: ванкоміцин, антибіотик, *Amycolatopsis orientalis*, *Streptomyces orientalis*, біотехнологія, виробництво, очищення.

ANNOTATION

The qualification thesis is devoted to improving the technology of vancomycin production for the needs of the pharmaceutical industry. The study examines the specific features of the biosynthesis of the target product, substantiates the selection of the producer strain *Streptomyces orientalis* KCCM-10836P, the composition of the nutrient medium, cultivation methods, as well as techniques for the isolation and purification of vancomycin. Material balance calculations were carried out, a production scheme was presented, technological equipment was selected, and the environmental aspects of the production process were outlined. The thesis consists of an introduction, three chapters, conclusions, a list of references, and appendices. The total volume of the work is 87 pages, including 7 figures, 5 tables, 37 references, and 2 appendices.

Keywords: vancomycin, antibiotic, *Amycolatopsis orientalis*, *Streptomyces orientalis*, biotechnology, production, purification.

ЗМІСТ

Вступ.....	3
1 Аналітичний огляд.....	6
2 Характеристика готового продукту, сировини, матеріалів, напівпродуктів.....	35
2.1 Характеристика готового продукту.....	35
2.2 Характеристика сировини.....	47
2.3 Характеристика біологічного об'єкту.....	49
2.4 Біосинтез цільового продукту.....	54
3 Технологічна частина.....	57
3.1 Розрахунок матеріального балансу.....	57
3.2 Розрахунок і вибір обладнання	59
3.3 Опис технологічного процесу.....	63
3.4 Схеми виробництва.....	73
3.5 Контроль виробництва.....	78
3.6 Екологічні аспекти виробництва.....	84
Висновок.....	87
Список використаної літератури.....	88
Додатки.....	92

					162.02.02.00 000 ПЗ							
Змн..	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата								
Розробив	Дарій				Організація виробництва антибіотика ванкоміцину Пояснювальна записка			Літ.	Арк.	Аркушів		
Перевірив	Січка									2	87	
.								НФаУ Кафедра біотехнології				
Н. контр.												
Затвердив	Хохленкова Н.В.											

ВСТУП

Актуальність теми. Ванкоміцин – один із глікопептидних антибіотиків, що пригнічує синтез клітинних стінок мікроорганізму. Крім того, ванкоміцин виявляє сильну пригнічувальну дію на грампозитивні бактерії, такі як стрептококи, стафілококи та *Clostridium difficile*, які є грампозитивними бактеріями, стійкими до антибіотиків пеніциліну та цефалоспоринів. Крім того, відомо, що ванкоміцин має високу лікувальну дію на захворювання, викликані стійким до метициліну *Staphylococcus aureus* (MRSA), який є смертельним для післяопераційних пацієнтів, пацієнтів похилого віку та пацієнтів зі слабким імунітетом. Незважаючи на те, що ванкоміцин використовується в клінічній практиці вже більше 60 років, все ще існують різні погляди щодо фармакокінетичних та фармакодинамічних властивостей даного лікарського препарату, а підходи до його оптимального дозування постійно змінювалися. Особливістю ванкоміцину є те, що він має вузьке терапевтичне вікно, тому застосування його вимагає обов'язкового лабораторного контролю, насамперед показників, що характеризують функції нирок. Зокрема нефротоксичність даного лікарського препарату асоціювали з недостатнім ступенем його очищення.

У патенті США № № 3, 067, 099, був розкритий процес ферментації та виробництва ванкоміцину. Однак цей запатентований процес показав дуже низький вихід штаму та продуктивність 0,2 мг/мл. Крім того, вартість виробництва також була дуже високою.

Для вирішення вищезазначених проблем було виділено та розроблено багато штамів, що мають високий вихід ванкоміцину. У відкритому викладенні патенту Кореї № 93-13090 було виявлено, що мутований штам *Amycolatopsis* (реєстраційний номер KFCC-10745) продукує ванкоміцин з високим виходом штаму. З іншого боку, у відкритій патентній публікації Кореї

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						3
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

№ 93-13091 було виявлено, що мутований штам *Amycolatopsis orientalis* (реєстраційний номер KFCC-10744) продукує ванкоміцин з високим виходом штаму. Крім того, у викладеній корейській патентній публікації № 93-13090 було розкрито процес бродіння для отримання ванкоміцину з високим виходом із використанням середовища культивування, що містить 1,0~2,0 мас./об.% клейковини або соєвої макухи як джерела азоту.

Незважаючи на те, що зазначені штами *Amycolatopsis*, описані у вищезазначених патентах, продемонстрували високий вихід штаму 6,1 мг/мл для виробництва ванкоміцину, існує багато перешкод для комерціалізації ванкоміцину, таких як висока токсичність і високий вміст домішок, а також висока вартість для виробництва. У зв'язку з цим удосконалення виробництва антибіотика ванкоміцину є актуальним.

Мета роботи – удосконалення виробництва антибіотика ванкоміцину для фармацевтичної галузі.

Завдання для досягнення мети наступні:

–обґрунтувати вибір штам продуцента антибіотика ванкоміцину та на основі його фізіолого-біологічних особливостей – склад поживного середовища для культивування;

–розглянути способи відділення біомаси від культуральної рідини та обґрунтувати вибір оптимального технологічного способу;

–розробити схему виробництва антибіотика ванкоміцину;

–провести технологічні розрахунки;

–навести характеристику готової продукції відповідно до вимог чинних НТД.

Об'єктом роботи є антибіотик ванкоміцин.

Предметом роботи є вивчення технології виробництва антибіотика ванкоміцину з повним біотехнологічним циклом на основі культивування бактерії *Amycolatopsis orientalis* (раніше *Streptomyces orientalis* KCCM-10836P

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						4
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

та переоснащення виробництва за рахунок впровадження сучасних технологічних рішень.

Методи, використані в роботі: літературно-аналітичний, математичний, порівняльний, графічний.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи дозволяють організувати цех з виробництва ванкоміцину, із *Amycolatopsis orientalis* (раніше *Streptomyces orientalis*) КССМ-10836Р на фармацевтичному підприємстві, а саме на базі практики ТОВ «Фармекс груп» для задоволення потреб фармацевтичної галузі через великий попит на ванкоміцин. Оцінка продуктивності ванкоміцину, а також процес ферментації для виробництва ванкоміцину з використанням *Amycolatopsis orientalis* КССМ-10836Р в середовищі, що містить декстрин як джерело вуглецю, соєвий порошок або картопляний білок як джерело азоту та інших мікроелементів шляхом регулювання складу середовища та ферментації сприятиме запровадженню ефективного процесу очищення ванкоміцину, що забезпечує високу чистоту, низький вміст домішок і низьку токсичність. Тобто, впровадження переоснащення сприятиме комплексному використанню продуктів культивування, отриманню більш якісних цільових продуктів та підвищенню продуктивності та економічності виробництва.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						5
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

1 АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД

1.1 Характеристика антибіотика ванкоміцину

Ванкоміцин – це препарат, який використовується для лікування серйозних грампозитивних бактеріальних інфекцій. Він відноситься до класу інгібіторів синтезу клітинної стінки протимікробних препаратів. У цій роботі розглядаються показання, дія та протипоказання для ванкоміцину як цінного протимікробного засобу при лікуванні грампозитивних бактеріальних інфекцій. Ця діяльність висвітлить механізм дії, профіль побічних ефектів, фармакокінетику та взаємодію лікарських засобів, що мають відношення до членів міжпрофесійної команди при лікуванні пацієнтів із клінічно значущими грампозитивними бактеріальними інфекціями.

Ванкоміцин є трициклічним глікопептидним антибіотиком, спочатку отриманим з організму *Streptococcus orientalis*. Ванкоміцин використовується для лікування та профілактики різноманітних бактеріальних інфекцій, спричинених грампозитивними бактеріями, включаючи метицилінрезистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA). Він також ефективний для стрептококів, ентерококів і чутливих до метициліну інфекцій *Staphylococcus aureus* (MSSA). Ванкоміцин має численні клінічні застосування, схвалені FDA та не за призначенням [27].

Схвалені FDA для клінічного використання:

- Диарея, спричинена *Clostridioides difficile* (пероральне застосування);
- Стафілококовий ентероколіт;
- Псевдомембранозний коліт;
- Ендокардит: дифтероїдний, ентерококовий, стафілококовий і стрептококовий види;

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						6
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- Стафілококові інфекції: септицемія, інфекції шкіри та м'яких тканин, інфекції кісток, інфекції нижніх дихальних шляхів тощо.
- Інфекції, пов'язані з катетером;
- Позалікарняна бактеріальна пневмонія;
- Інфекція *Clostridioides difficile*;
- Неонатальна профілактика стрептококів групи В;
- Внутрішньочеревні інфекції, спричинені резистентними до ампіциліну ентерококами;
- Бактеріальний менінгіт;
- Бактеріальний ендoftальміт (системне або інтравітреальне введення);
- Природний вертебральний остеомієліт;
- Перитоніт;
- Інфекція протезного суглоба;
- Некротичні інфекції шкіри та м'яких тканин;
- Хірургічна профілактика;
- Хірургічні інфекції [19].

Ванкоміцин є глікопептидним антибіотиком, який надає бактерицидну дію шляхом інгібування полімеризації пептидогліканів у клітинній стінці бактерій. Бактеріальна клітинна стінка містить жорсткий шар пептидоглікану з сильно зшитою структурою, що складається з довгих полімерів N-ацетилмурамової кислоти (NAM) і N-ацетилглюкозаміну (NAG). Ванкоміцин зв'язується з D-аланін D-аланіном, який пригнічує глюкозилтрансферазу (пептидоглікансинтазу) і Р-фосфоліпідний носій, тим самим запобігаючи синтезу та полімеризації NAM і NAG в шарі пептидоглікану. Це гальмування послаблює клітинні стінки бактерій і, зрештою, викликає витік внутрішньоклітинних компонентів, що призводить до загибелі бактеріальних клітин. Ванкоміцин активний лише проти грампозитивних бактерій [10, 23].

Ванкоміцин схвалений FDA для внутрішньовенних ін'єкцій або перорального введення. Ректальне застосування ванкоміцину не за

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						7
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

призначенням, корисне для лікування інфекції *Clostridium difficile*. Введення залежить від типу та локалізації інфекції. Ванкоміцин має низьку біодоступність при пероральному прийомі; тому для лікування більшості інфекцій його вводять внутрішньовенно [12].

Внутрішньовенне введення ванкоміцину може лікувати інфекції MRSA та інші чутливі грампозитивні мікроорганізми. Він доступний у вигляді 5 мг/мл внутрішньовенного розчину, 10 мг/мл у 0,9% розчині NaCl або 5 мг/мл у 5% розчині декстрази або 0,9% розчині NaCl. Він також доступний у вигляді стерильного порошку для розчинення по 500 мг, 1 г, 1,25 г, 1,5 г і 10 г у флаконі. Необхідна доза ванкоміцину залежить від типу та тяжкості інфекції, загальної клінічної картини пацієнта, функції нирок і маси тіла. Бажану внутрішньовенну дозу слід вводити повільно протягом щонайменше 60 хвилин. Частота введення коливається від кожні 8 до 24 годин і повинна регулюватися залежно від функції нирок, віку та мінімальних концентрацій у сироватці крові. Найнижчі концентрації в сироватці вимагають ретельного моніторингу в усіх пацієнтів [17].

Пероральний ванкоміцин має низьку системну абсорбцію і ефективний лише для лікування кишкових інфекцій. Тому єдиними показаннями є лікування діареї, спричиненої *Clostridioides difficile* (CDAD), псевдомембранозного коліту та стафілококового ентероколіту. Пероральний ванкоміцин не є відповідним варіантом лікування системних інфекцій, що вражають інші органи або частини тіла. В даний час ванкоміцин для перорального застосування доступний у вигляді капсул по 125 мг і 250 мг і розчину для перорального прийому 250 мг / 5 мл. Зазвичай його вводять чотири рази на день протягом 7-10 днів. Однак визначення точної дози та тривалості терапії є зам залежить від багатьох факторів, включаючи показання, оцінку клінічної картини пацієнта та тяжкість інфекції. Через низьку системну абсорбцію пероральний ванкоміцин не потребує корекції дози при порушенні функції нирок. Крім того, звичайний контроль рівня

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						8
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

сироватки не є рекомендацією для пацієнтів, які отримують лише пероральний ванкоміцин [15].

Шляхи введення антибіотика є такими: внутрішньовенне, пероральне, ректальне введення (не за призначенням).

За пригніченням росту бактерій ванкоміцин характеризується як повільно бактерицидний.

Біодоступність ванкоміцину при пероральному прийомі становить менше 10 %. Ванкоміцин має швидкий початок дії з піком концентрації в сироватці відразу після завершення внутрішньовенної інфузії. Початок дії перорального ванкоміцину наразі невідомий. Для антибіотика є характерним великий об'єм розподілу (від 0,4 л/кг до 1,0 л/кг) у тканинах і рідинах організму, за винятком спинномозкової рідини (ліквору) з незапаленою мозковою оболонкою. Зв'язування з білками складає приблизно 55%. Метаболізм є відсутнім (виводиться в незміненому вигляді). Кліренс: від 0,71 мл/хв/кг до 1,31 мл/хв/кг у дорослих із нормальною функцією нирок.

Період напіввиведення: ванкоміцин має двофазний період напіввиведення, причому його початковий період напіввиведення є відносно швидким, а кінцевий період напіввиведення становить від 4 до 6 годин у здорових дорослих з нормальною функцією нирок. Період напіввиведення значно подовжується у пацієнтів із порушенням функції нирок. За цими пацієнтами необхідне ретельне спостереження. Після внутрішньовенної ін'єкції ванкоміцин переважно виводиться шляхом клубочкової фільтрації в нирках (75 % із сечею). Пероральний ванкоміцин переважно виводиться з калом.

Поширені побічні ефекти внутрішньовенної ін'єкції ванкоміцину включають нефротоксичність, гіпотензію та реакції гіперчутливості. Анафілаксія – це тип реакції гіперчутливості, яка може виникнути при застосуванні ванкоміцину [14, 16].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						9
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Синдром припливу ванкоміцину (СПВ), раніше відомий як синдром Редмана, є реакцією, пов'язаною з інфузією, пов'язаною зі швидкою внутрішньовенною інфузією ванкоміцину. Симптоми включають почервоніння, свербіж і еритематозний висип на обличчі, шиї та верхній частині тулуба. Ознаки СПВ часто з'являються через 4-10 хвилин після початку або незабаром після завершення інфузії. Частота СПВ коливається від 3,7 до 47% у пацієнтів. Проте існує пряма кореляція між збільшенням частоти СПВ та швидшими темпами введення ванкоміцину. Швидка інфузія ванкоміцину може призвести до ангіоневротичного набряку та гіпотензії, які супроводжують СПВ. Звіти показують, що найважчі форми цієї реакції часто виникають у дітей та пацієнтів віком до 40 років. Спочатку інфузію можна продовжити. Таким чином, подовження часу інфузії є основною стратегією лікування, яка використовується для пом'якшення СПВ. Тим не менш, премедикація антигістамінними препаратами, такими як дифенгідрамін або гідроксизин, може бути корисною для запобігання виникненню СПВ.

Менш поширені побічні ефекти включають місцевий флебіт, озноб, медикаментозну лихоманку, шкірний висип, еозинофілію та оборотну нейтропенію. У рідкісних випадках пацієнти повідомляли про DRESS-синдром (медикаментозне висипання з еозинофілією та системними симптомами), ототоксичність, тромбоцитопенію, васкуліт і синдром Стівенса-Джонсона [11].

Побічні ефекти з боку шлунково-кишкового тракту, такі як біль у животі та нудота, зазвичай спостерігаються при пероральному застосуванні ванкоміцину. Крім того, дисгевзія або спотворене відчуття смаку є поширеним побічним ефектом, унікальним для перорального розчину ванкоміцину. Пацієнти повинні звернутися за медичною допомогою, якщо ці побічні ефекти є серйозними та докучливими. Зверніть увагу, що багато з цих побічних ефектів є тимчасовими.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						10
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Менш поширені побічні ефекти перорального ванкоміцину включають периферичні набряки, втома, головний біль, діарею, метеоризм, блювання, біль у спині, інфекцію сечовивідних шляхів і лихоманку. Існують повідомлення про рідкісні випадки підвищення креатиніну в сироватці крові, СПВ, інтерстиціального нефриту, нефротоксичності, ототоксичності, тромбоцитопенії та васкуліту при пероральному застосуванні ванкоміцину.

Ванкоміцин протипоказаний пацієнтам з відомою реакцією гіперчутливості на препарат або будь-який компонент препарату [13].

Хоча ванкоміцин не має багатьох протипоказань, є деякі важливі клінічні міркування, про які слід пам'ятати під час догляду за пацієнтом. Пацієнти літнього віку більш схильні до токсичності ванкоміцину при внутрішньовенному введенні через вікові зміни функції нирок, об'єму розподілу та накопичення. Ці пацієнти потребують ретельного спостереження та потребують більш консервативного режиму дозування.

Пероральні капсули ванкоміцину віднесені до категорії В для використання під час вагітності. Навпаки, внутрішньовенна ін'єкція ванкоміцину відноситься до категорії С. Ванкоміцин не слід застосовувати під час вагітності, якщо тільки користь від нього не переважає ризик препарату. При необхідності лікування ванкоміцином закрити пп Для зниження ризику ототоксичності та нефротоксичності у плода рекомендується аналіз крові матері. Дослідження на тваринах ще не виявили доказів шкоди плоду від застосування матір'ю ванкоміцину. Однак ванкоміцин проникає крізь плаценту, і дослідники виявили його в сироватці плода, амніотичній рідині та пуповинній крові. Пацієнтки, які завагітніли під час прийому ванкоміцину, повинні негайно звернутися до свого лікаря. Крім того, важливо зазначити, що вагітним пацієнткам можуть знадобитися більш високі дози ванкоміцину для досягнення терапевтичних концентрацій через зміни у фармакокінетиці, такі як збільшення об'єму розподілу та загального плазмового кліренсу.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						11
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Ванкоміцин виділяється в грудне молоко після внутрішньовенного введення. Для порівняння, пероральний ванкоміцин має мінімальну системну абсорбцію і, отже, обмежене виведення через грудне молоко. Матері, які годують грудьми, які отримують ванкоміцин внутрішньовенно, повинні проконсультуватися зі своїм постачальником, перш ніж продовжувати, оскільки це може вплинути на здоров'я їхньої дитини. Незважаючи на це, ванкоміцин рекомендується для лікування інфекцій, спричинених *Clostridioides difficile*, у жінок, які годують груддю. Рекомендується ретельна оцінка щодо припинення грудного вигодовування перед початком терапії ванкоміцином у годуючих матерів.

Знижена функція нирок може призвести до накопичення ванкоміцину в організмі, що підвищує ризик побічних ефектів. При порушенні функції нирок необхідна корекція дозування. Ретельний моніторинг мінімальних концентрацій ванкоміцину необхідний для всіх пацієнтів із порушенням функції нирок. Пацієнтам слід поради́ти звернутися до свого лікаря, якщо вони відчують симптоми зниженої функції нирок, такі як зменшення виділення сечі, набряк і біль у животі, оскільки ванкоміцин може посилити ниркову недостатність [17].

Як і у випадку з іншими протимікробними препаратами, тривале або невідповідне лікування ванкоміцином може призвести до резистентності бактерій, таких як резистентні до ванкоміцину ентерококи (BRE). Постачальники повинні знати про підвищену стійкість до антимікробних препаратів і практикувати відповідне управління антимікробними препаратами. Крім того, пацієнти повинні отримати консультації щодо важливості дотримання режиму лікування для запобігання розвитку мультирезистентних інфекцій [24].

Одночасне застосування інших препаратів разом із ванкоміцином може збільшити ризик побічних ефектів і токсичності. Тому при поєднанні ванкоміцину з певними препаратами слід звернути увагу на коригування

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						12
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

дозування, додатковий моніторинг та розгляд альтернативного лікування. Необхідна обережність при введенні ванкоміцину з іншими нефротоксичними агентами, такими як аміноглікозиди, продукти амфотерицину та внутрішньовенне контрастування.

Пацієнти, які отримують терапію ванкоміцином, потребують моніторингу для забезпечення безпеки та ефективності препарату. Періодичні тести функції нирок і повний аналіз крові можуть допомогти контролювати реакцію пацієнта на препарат [27].

Одночасне застосування нефротоксичних засобів (наприклад, аміноглікозидів, піперацилін-тазобактаму, амфотерицину В, циклоспорину, петльових діуретиків, нестероїдних протизапальних препаратів, контрастного барвника).

Для оцінки задовільної клінічної відповіді також рекомендується моніторинг мінімальних концентрацій ванкоміцину у стабільних пацієнтів із нормальною функцією нирок. Отримання мінімальних концентрацій ванкоміцину в сироватці дозволяє медичним працівникам оцінити ефективність режиму дозування ванкоміцину та кліренс препарату в окремого пацієнта. Цільова терапевтична мінімальна концентрація в сироватці змінюється залежно від показань і зазвичай коливається від 10 мкг/мл до 20 мкг/мл.

Найнижчу концентрацію в сироватці в ідеалі слід визначати негайно (30 хвилин або менше) перед введенням дози в умовах рівноважного стану. Як правило, рівноважний стан настає після третьої дози ванкоміцину. На відміну від внутрішньовенної ін'єкції ванкоміцину, пероральний ванкоміцин зазвичай не потребує моніторингу концентрації в сироватці крові через відсутність системної абсорбції.

Нефротоксичність і ототоксичність корелюють із застосуванням ванкоміцину [27].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						13
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Хоча є численні повідомлення про випадки гострої ниркової недостатності, пов'язані із застосуванням ванкоміцину, наразі є обмежені дані, що свідчать про прямий причинно-наслідковий зв'язок. Передбачуваним механізмом нефротоксичності є ішемія ниркових каналців внаслідок окисної дії ванкоміцину на клітини проксимальних відділів ниркових каналців. Загальні фактори ризику нефротоксичності включають наявне порушення функції нирок, одночасне застосування нефротоксичних ліки, похилий вік і зневоднення. Хоча індукована ванкоміцином нефротоксичність зазвичай є оборотною, диференціювати її від гострого інтерстиціального нефриту та погіршення функції нирок внаслідок неконтрольованої інфекції може бути складно. Нефротоксичність, спричинену ванкоміцином, можна визначити за підвищенням рівня креатиніну в сироватці крові за відсутності причинного пояснення. Дозування ванкоміцину на основі розрахункового кліренсу креатиніну є загальнозживаним методом для запобігання нефротоксичності. Пацієнти, у яких спостерігаються ознаки гострої ниркової недостатності, спричинені застосуванням ванкоміцину, повинні негайно припинити терапію. Важливо також зазначити, що є повідомлення про випадки нефротоксичності як при пероральному, так і при внутрішньовенному застосуванні ванкоміцину. Випадки нефротоксичності, пов'язані з пероральним ванкоміцином, як правило, спостерігалися у пацієнтів старше 65 років.

Ототоксичність є рідкісним ускладненням, пов'язаним із монотерапією ванкоміцином. Це часто зустрічається у пацієнтів, які отримують надмірні дози ванкоміцину, одночасно приймають ототоксичні препарати (наприклад, аміноглікозиди, петльові діуретики, протипухлинні препарати), а також у пацієнтів із основною втратою слуху. Лікування слід припинити, якщо у пацієнтів виникають ознаки цитотоксичності, такі як шум у вухах, втрата слуху та незбалансовані рухи. Слід зазначити, що індукована ванкоміцином ототоксичність у деяких випадках може бути незворотною. Тестування слухової функції може бути корисним для виявлення ранніх симптомів [25].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		14

Ванкоміцин доступний вже більше 70 років. Донедавна це була емпірична терапія для лікування більшості грампозитивних організмів. Це дуже ефективний препарат, але вимагає внутрішньовенного введення. Однак лікарська резистентність до ванкоміцину стає все більш поширеною, і необхідно обмежити його використання. Фармацевт має життєво важливе значення для того, щоб клініцист не призначав ванкоміцин емпірично, коли доступні інші альтернативи.

У більшості лікарень є комісія з лікарських засобів, до складу якої входять лікарі та фармацевти, які забезпечують контроль за використанням ванкоміцину. Фактично, у багатьох лікарнях перед використанням ванкоміцину потрібно отримати дозвіл інфекціоніста або фармацевта. Ванкоміцин є одним з небагатьох препаратів, які все ще діють проти MRSA. Інша проблема ванкоміцину полягає в тому, що концентрація препарату потребує моніторингу, оскільки він є як ототоксичним, так і нефротоксичним; фармацевт повинен переконатися, що медичний працівник замовляє концентрацію препарату в сироватці. Медичний персонал повинен перевіряти ці концентрації та регулювати дозу залежно від функції нирок. Медсестра, ймовірно, першою бачить розпорядження про ванкоміцин і завжди повинна поговорити з фармацевтом, щоб визначити, чи підходить це розпорядження. Фармацевт повинен перевірити протокол прийому ліків пацієнтом, перш ніж дати зелене світло. Нарешті, медсестра повинна розповісти пацієнту про побічні ефекти ванкоміцину, такі як ВФС, а також про можливість слухової та ниркової дисфункції. Без підходу міжпрофесійної команди за участю клініцистів, спеціалістів, медсестер і фармацевтів емпіричне використання ванкоміцину зробить препарат марним для більшості інфекцій [36].

Єдиний спосіб контролювати витрати на ліки та емпіричне призначення – створити комітет із лікарських засобів, який контролює, які ліки призначають медичні працівники та чому. Нарешті, комітет повинен мати список препаратів, які не можна призначати без особливої потреби, коли

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						15
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

доступні менш дорогі альтернативи для контролю витрат на охорону здоров'я. Досягнення цих цілей для терапії ванкоміцином вимагає підходу міжпрофесійної команди, включаючи клініцистів, медсестер та інфекціоністів (як лікарів, так і фармацевтів), які працюють разом для досягнення оптимальних результатів для пацієнтів [13].

1.2 Загальна характеристика глікопептидних антибіотиків та особливості одержання ванкоміцину

Важливий розвиток у галузі глікопептидних антибіотиків відбувся наприкінці 1990-х років, коли три групи незалежно один від одного досягли повного синтезу ванкоміцину. Враховуючи абсолютну структурну складність натурального продукту, ця серія синтетичних досягнень була чудовою та була на передовій у галузі органічного синтезу того часу. З огляду на повідомлення про швидке зростання резистентних штамів бактерій, отримані офіційними особами охорони здоров'я, ці зусилля були зумовлені не лише проблемою розробки ефективного шляху до складного натурального продукту, але й щоб прокласти шлях для біологічного дослідження раніше недоступних синтетичних аналогів. Тут ми розглядаємо лише роботи, що завершують повний синтез членів групи глікопептидних антибіотиків, пов'язаних із ванкоміцином, їхніх агліконів та синтетичних аналогів.

Глікопептидні антибіотики в даний час є одними з провідних клінічно важливих природних продуктів, відкритих шляхом виділення бактеріальних метаболітів. Вони володіють широким спектром антибактеріальної дії проти грампозитивних патогенів з керованими побічними ефектами. З моменту клінічного впровадження глікопептидні антибіотики ванкоміцин і тейкопланін стали препаратами «останньої інстанції», коли зустрічаються резистентні бактеріальні інфекції. З появою метицилінрезистентного

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		16

Staphylococcus aureus (MRSA) ванкоміцин широко використовувався в клініці як «прямий» метод лікування. Спочатку обмежуючись лікарнями, сьогодні більше 60% обох відділень інтенсивної терапії та позалікарняні інфекції *S. aureus* є MRSA, і спричинили понад 12 000 смертей у США у 2011 році. Крім того, інфекційні захворювання (наприклад, грип і пневмонія), ускладнені додатковими бактеріальними інфекціями, які часто вимагають лікування ванкоміцином, входять до числа основних причин смерті в США. Глікопептидні антибіотики також рекомендуються до використання з пацієнтами з алергією на β -лактамні антибіотики, які проходять хіміотерапію раку або поточну терапію діалізом. Отже, важливість і клінічне застосування ванкоміцину продовжує постійно зростати з моменту його появи 60 років тому [18].

З моменту встановлення структури глікопептидних антибіотиків було зроблено значні зусилля щодо синтезу як напівсинтетичним, так і повним синтезом. Ці дослідження заклали основу для поточних структурно-функціональних досліджень антибіотиків, допомагаючи у визначенні їхнього механізму дії. Вони також з'ясували неочікувані нові ролі для додаткових неприродних функцій, що призвело до відкриття вдосконалених або раціонально розроблених глікопептидних антибіотиків.

Ванкоміцин був виділений на початку 1950-х років у Е. Ліллі та оприлюднений у 1956 році, а потім з'явилися інші глікопептидні антибіотики в цій родині. Незважаючи на те, що ванкоміцин був схвалений для клінічного використання в 1958 році, його структуру було встановлено лише через 25 років. Ранні дослідження хімічної деградації, за якими послідували наступні основоположні дослідження Вільямса, і новаторська рентгенівська кристалічна структура продукту деградації CDP-1 Шелдриком забезпечили початкову структуру. За цим супроводжувалися ітераційні виправлення призначеної структури, що є результатом нерозпізнаної ізомеризації атропізомерів та перегрупування аспарагіну в ізоаспартат в умовах

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						17
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

деглікозилування, що надає багату історію повного структурного визначення ванкоміцину Гаррісом, яке з'явилося в 1982 році [16]. За цим слідували за повними структурними призначеннями для ристоцетин, тейкопланін і ряд глікопептидних антибіотиків. Вичерпні огляди Перкінс, Вільямс, Ніколау, Курвалін, Уолш і Кане та інших містять табличні відомості про відомі глікопептидні антибіотики.

Основні дослідження, які визначили механізм дії глікопептидних антибіотиків, включають: початкову демонстрацію Стромінгера про те, що вони пригнічують біосинтез клітинної стінки бактерій, проникливі та комплексні дослідження Перкінса, які встановили зв'язування антибіотиків з D-Ala-D-Ala закінченнями попередників пептидогліканів, дослідження Вільямса, які визначили структури комплексів, пов'язаних з антибіотиками, з модельними лігандами D-Ala-D-Ala, пізніше підтвердження структур та їхніх комплексів рентгенівськими кристалографічними дослідженнями, проведеними Шелдріком, та дослідження Уолша-Курваліна, який розкрив молекулярний механізм стійкості до ванкоміцину [31].

Глікопептидні антибіотики незвичайні тим, що вони не націлені на певний білок або нуклеїнову кислоту в бактеріях, як більшість інших класів антибіотиків (наприклад, β -лактами), а натомість вони зв'язують попередники пептидогліканів, необхідні для побудови клітинної стінки. Зв'язування з D-Ala-D-Ala секвеструє субстрат для каталізованої ферментом реакції перехресного зв'язування стінки бактеріальної клітини (транспептидаза) і впливає на каталізоване трансглікозилазою включення ліпідного проміжного продукту II в кістяк полісахаридної клітинної стінки (рис. 1.1). Бактеріям важко вносити окремі генетичні зміни, які призводять до стійких змін у цих попередниках, що дозволяє глікопептидним антибіотикам залишатися ефективними протягом майже 60 років [18].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						18
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

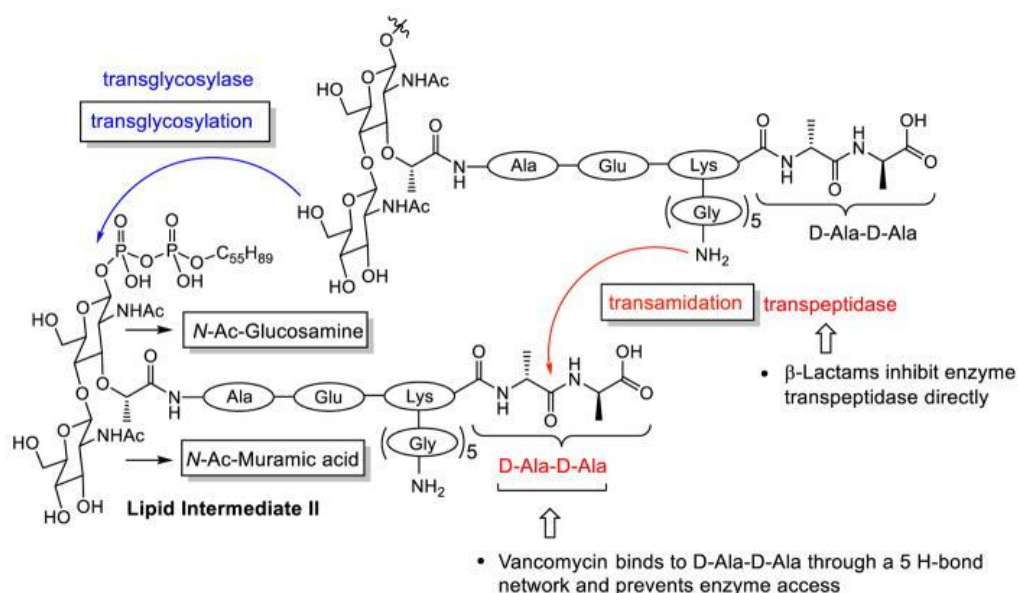


Рис. 1.1 - Попередники бактеріальної клітинної стінки грампозитивних бактерій і зв'язування ванкоміцину з D-Ala-D-Ala

Фактично, єдина клінічно значуща резистентність до глікопептидних антибіотиків, яка вперше виникла в ентерококів у 1987 році, не була незалежною еволюцією патогенних бактерій. Швидше, його було взято з непатогенних організмів, що виробляють ванкоміцин, які використовують цей складний механізм стійкості, щоб захистити себе під час виробництва глікопептидного антибіотика. Тобто, це передбачає виявлення глікопептидного виклику та організовану відповідь, яка призводить до пізніх стадій ремоделювання попередник пептидоглікану N-кінець від D-Ala-D-Ala до D-Ala-D-Lac. Ця зміна, яка являє собою обмін одним атомом у попередниках, зменшує зв'язування глікопептидних антибіотиків у 1000 разів, роблячи їх неефективними [17].

Таким чином, було розкрито розширення зусиль із загального синтезу глікопептидних антибіотиків до отримання аналогів, які містять компенсаторні одноатомні обміни, які тепер демонструють подвійне зв'язування D-Ala-D-Ala/D-Ala-D-Lac і активність як проти чутливих, так і стійких до ванкоміцину організмів. Ці зусилля разом із периферичними

модифікаціями глікопептидних антибіотиків, які вводять додаткові механізми дії.

На шляху до розробки повного синтезу самого ванкоміцину Еванс повідомив про повний синтез С-аглікону орієнтицину. Цей природний продукт-аглікон майже ідентичний тому, що міститься у ванкоміцину, лише в кільцевих С і Е арилхлоридах аглікону. Крім того, проміжні продукти пізньої стадії, отримані в цих зусиллях, імовірно, можуть бути використані також для отримання аглікону ванкоміцину [14].

Ванкоміцин є жорстким трициклічним гептапептидом із трьома макроциклічними кільцевими системами, вбудованими в каркас, одна з яких має аксіальну хіральність, а дві містять елементи планарної хіральності. Центральний фенол аглікону приєднаний до дисахариду, що складається з глюкози і ванкозаміну. Враховуючи складність ванкоміцину, розробка синтетичних стратегій побудови його скелета залучила багато груп, три з яких повідомили про повний синтез у 1998–1999 роках: Девід А. Еванс, К. С. Ніколау та Дейл Л. Богер. Це сталося приблизно через 45 років після його ізоляції, через 40 років після його введення в клініку та майже через 25 років після визначення його структури.

Загальний синтез аглікону ванкоміцину Евансом базувався в основному на їхній попередній роботі з орієнтицином С. Передбачалися ті самі ключові роз'єднання, крім роз'єднання кільцевої системи CD. Тут зв'язок С–О кільця С був розірваний, а не зв'язок С–О кільця D, і його синтетичне утворення тепер покладалося на утворення зв'язку діарилового ефіру SNAr60 , а не на окислювальну циклізацію, інспіровану біоміметиками. Основні відмінності також виявлені в синтезі системи ABCD, де макроцикл АВ утворювався спочатку на трипептидній стадії, а потім сполучалося додавання кільця D і конструювання макроциклу CD. Це контрастує з зусиллями щодо орієнтицину С [14], де ациклічний тетрапептид ABCD був отриманий перед послідовним закриттям макроциклів у зворотному порядку, утворюючи кільцевий

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						20
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

макроцикл CD до формування кільцевої системи АВ. Таким чином, загальна стратегія, прийнята для повного синтезу аглікону ванкоміцину, передбачала порядок макроциклізації, в якому кільцеві системи АВ, CD і DE були введені послідовно, і спиралася на емпірично визначений субстратний контроль кінетичної атроподіастереоселективності трьох ключових реакцій макроциклізації. Як і у випадку з орієнтицином С, карбонова кислота на С-кінці була замаскована під N-метиламід, щоб запобігти епімеризації в цьому центрі, чутливому до основи (рис. 1.2).

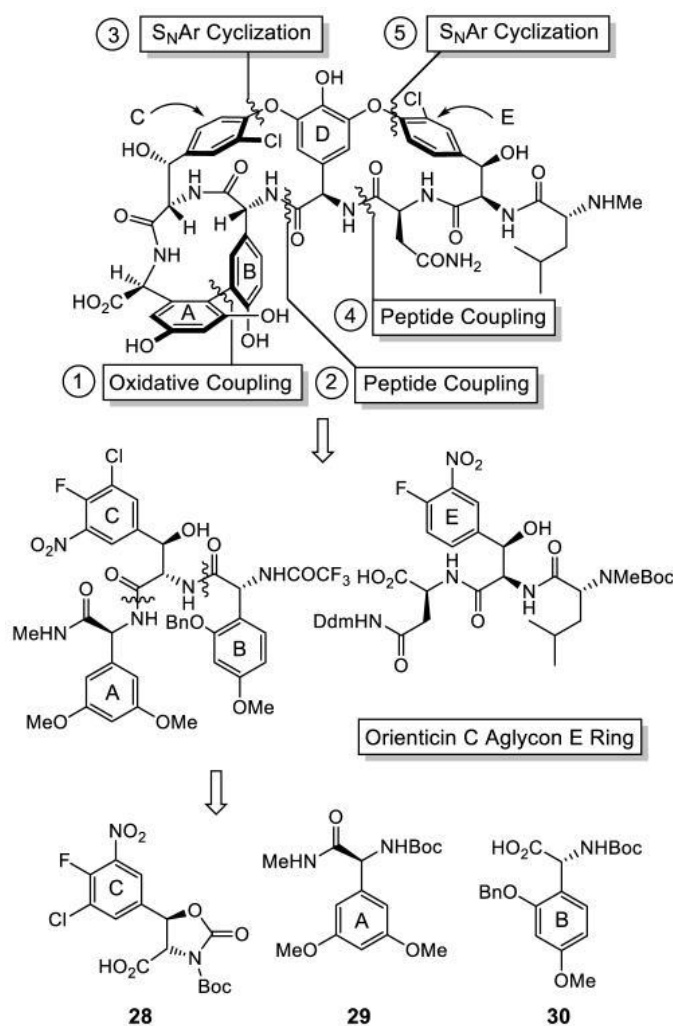


Рис. 1.2 - Ретросинтетичний аналіз ванкоміцину аглікону Еванса

Паралельно зі звітом Еванса, Ніколау опублікував три послідовні статті, в яких описується робота, кульмінацією якої став повний синтез аглікону

ванкоміцину. Усі три загальні синтези базуються на утворенні зв'язуючих діарилових ефірів у ключових реакціях макроциклізації кільцевої системи CD та DE, і Ніколау розробив нову реакцію для побудови цього зв'язку. Завдяки триазену, приєднаному до кільця D із заміщенням на о,о'-дибром, бромід міді успішно стимулював реакцію S_NAr , активовану металом, для утворення діарилового ефіру як CD, так і DE (рис. 1.3). Додатковою відмінністю від підходу Еванса було використання Шарплесса реакція асиметричного дигідроксилювання для доступу до окремих субодиниць з необхідною абсолютною стереохімією в A, D та E кілець разом із використанням реакції асиметричного аміногідроксилювання Шарплеса для асиметричного синтезу субодиниці кільця C [28].

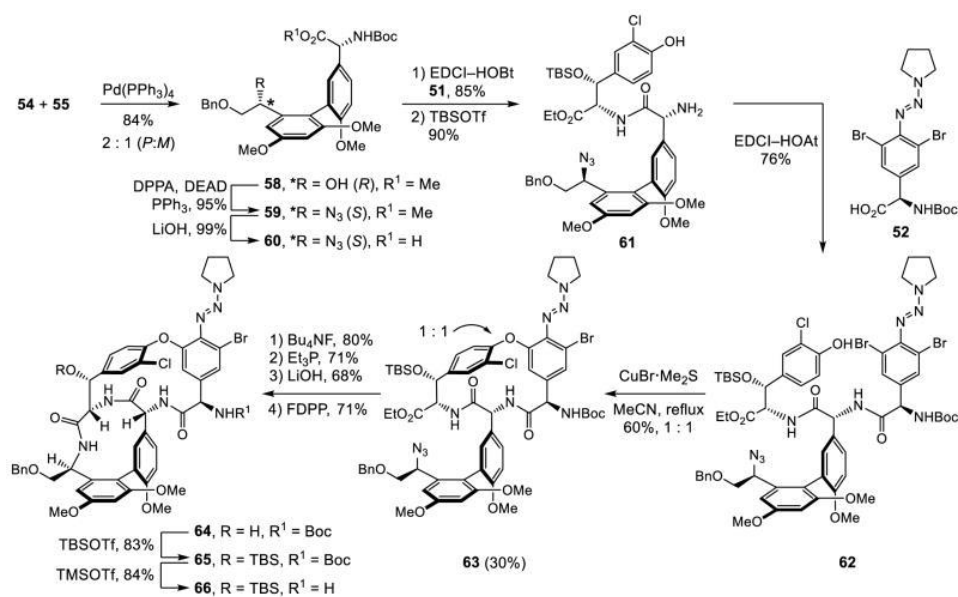


Рис. 1.3 - Синтез Ніколау кільцевої системи ванкоміцину ABCD

Незабаром після перших двох повідомлень про повний синтез аглікону ванкоміцину Богер розкрив додаткову конвергентну стратегію. У зусиллях, що призвели до повного синтезу, Богер встановив, що кільцеві системи CD і DE були найбільш ефективно закриті через утворення діариловий ефірний зв'язок, і досліджено, реалізовано та вдосконалено методологію, яка буде

використовується для замикання кільця кільцевих систем CD і DE. Ефективна макролактамізація для закриття 12-членної біарильної кільцевої системи АВ також була розкрита Богером, визначивши тонкі особливості, ключові до її незвичайного успіху, і непряму стратегію для контролю трьох стереохімічних елементів атропізомерії. Таким чином, дві макроциклізації S_NAr 16-членних діарильових ефірів із залученням фенолу реакції нуклеофільного заміщення о-нітрофтороароматичної сполуки використовували для послідовного утворення кільця CD і DE. Для циклізації кільцевої системи АВ використовували ключову реакцію макролактамізації та визначений порядок замикання кільця CD, АВ і DE дозволена селективна термічна атропізомерія новоутворених кільцевих систем або їх проміжних попередників (рис. 1.4).

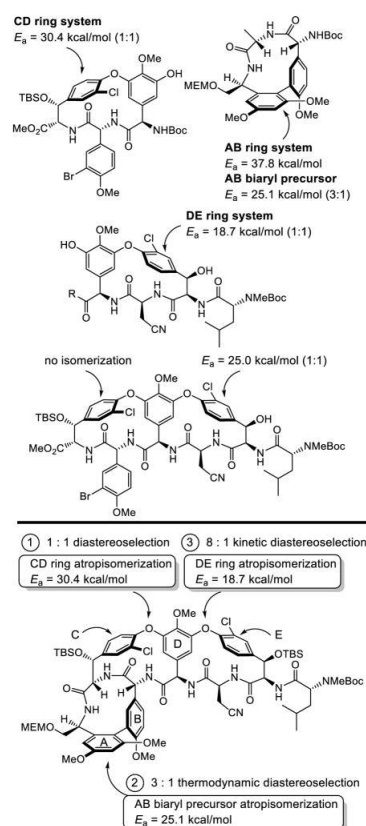


Рис. 1.4 - Врівноваження атропізомерів та експериментальний E_a окремих кільцевих систем ванкоміцину та визначений порядок введення кільцевих систем.

На додаток до будь-якої діастереоселекції, яка була досягнута в замиканнях кілець, цей порядок дозволив переробити будь-який небажаний атропізомер для кожної кільцевої системи та забезпечив передбачуваний контроль стереохімії, надійно направляючи весь синтетичний матеріал в один із восьми атроподіастереомерів, знайдених у натуральному продукті [11].

Введення вуглеводів на аглікон ванкоміцину було здійснено за допомогою двох взаємодоповнюючих підходів: хімічного глікозилювання; та ферментативне глікозилювання *in vitro* [33]. Перевага хімічної стратегії полягає в широкому діапазоні субстратів, що дозволяє використовувати різноманітні модифіковані партнери зв'язування вуглеводів порівняно з ферментативним глікозилюванням. Ферментативна реакція має перевагу в тому, що немає необхідності захищати нуклеофільні функціональні групи ні в агліконі, ні в цукрі, безпосередньо забезпечує ванкоміцин у два етапи з повністю знятого захисту аглікону та дозволяє уникнути проблем хемоселективності неферментативних засобів. Стабільна експресія рекомбінованих ферментів і комерційна або синтетична доступність косубстратів сьогодні роблять ферментативне глікозилювання настільки ж масштабованим, як і хімічне глікозилювання. Протягом останніх кількох десятиліть були розроблені методи хімічного глікозилювання, що сприяють основі та кислоті, для селективного утворення глікозильного зв'язку. Однак опосередкована основами SN2 заміна аномерного галогеніду не підходить для використання з ванкоміцином та спорідненими похідними через конкурентну епімеризацію агліконів. Використання глікозилювання, яке стимулюється кислотою, усуває такі проблеми.

Кане розробив підхід, згідно з яким активовані донори глікозилу послідовно з'єднуються із захищеним агліконом за допомогою стратегії глікозилювання, що стимулюється кислотою. Для сприяння селективному утворенню β -глікозильного зв'язку зі стабілізацією сусідньої групи використовувалася функціональна функціональна група C2. проміжний

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						24
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

продукт оксонієвого іону і для стереохімічного контролю аномеру нуклеофільне заміщення кисневим нуклеофілом [31].

Ніколау переслідував дві стратегії хімічного глікозилювання:

- 1) одноетапне пряме введення дисахариду;
- 2) послідовне глікозилювання з двома функціональними цукрами.

Богер розширив зусилля своєї групи до повного синтезу нових модифікованих аналогів ванкоміцину з амбітною метою подолання стійких до ванкоміцину бактеріальних інфекцій. Продуманий механізм резистентності організовує просту зміну одного атома в попередниках клітинної стінки бактерій, що значно знижує спорідненість зв'язування ванкоміцину з його мішенню та його антимікробну активність у 1000 разів [34]. Богер розпочав дослідження, визначивши походження цієї втрати зв'язування спорідненість, поділивши її на:

- 1) втрату Н-зв'язку;
- 2) введення дестабілізуючого одиночного зв'язку пара/неподілена пара відштовхування між карбонільним киснем 4 аміду ванкоміцину та киснем лактатного ефіру [26].

Дослідження зв'язування проводили з ванкоміцином і модельними лігандами 216–218. Це включало кетонівий ліганд, що містить зв'язувальний метилен, який не має неподіленої пари та нездатний до Н-зв'язку. Ці дослідження показали, що саме дестабілізуюче електростатичне відштовхування (у 100 разів), більше, ніж Н-зв'язок (у 10 разів), відповідає за 1000-кратну втрату спорідненості зв'язування. Це має значні наслідки для переробки ванкоміцину для лікування стійких до ванкоміцину бактерій, вказуючи на те, що просте усунення дестабілізуючої взаємодії неподілених пар/неподілених пар без реінжинірингу зворотного Н-зв'язку може покращити афінність і активність у 100 разів. У результаті та в початкових дослідженнях модифікація зв'язувальної кишені в ядрі ванкоміцину, яка замінила залишок 4/5 амід-карбоніла на амінометиленовий зв'язок, була спрямована на усунення

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						25
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

дестабілізуючих взаємодій неподілених пар [14]. Більш тонко, така модифікація забезпечує антибіотику збалансовані здібності зв'язування подвійного ліганду, необхідні для стійких до ванкоміцину організмів (D-Ala-D-Ala та D-Ala-D-Lac), зберігаючи при цьому свою здатність зв'язувати D-Ala-D-Ala, необхідну для чутливих до ванкоміцину бактерій.

План синтезу амінометиленового аналога 219 базувався в основному на шляху, реалізованому в загальному синтезі аглікону ванкоміцину, хоча й з удосконаленнями [14]. Ключові елементи підходу включають синтез модифікованої кільцевої системи ванкоміцину ABCD, що містить відновне амінування. для встановлення амідної модифікації, першої з двох запірок діарилового ефіру для утворення модифікованої кільцевої системи CD (76%, кінетична атроподіастереоселективність 2,5–3,1), зв'язок Сузукі для встановлення утрудненого біарильного зв'язку АВ (90%), на якому стереохімія атропізомерів може бути терморегульована, і макролактамізаційне закриття Кільцева система АВ (70%). Подальше введення кільцевої системи DE включало реакцію ароматичного нуклеофільного заміщення при кімнатній температурі для утворення решти діарилового ефіру (86%, 6–7:1 кінетична атроподіастереоселективність), завершуючи вуглецевий скелет 219. Метилкарбамат був обраний як захисна група для амінометиленову групу, яка була толерантною до всіх хімічних перетворень в цілому синтезу, але здатний до видалення на кінцевому глобальному етапі зняття захисту за допомогою AlBr₃–EtSH. Крім того, відносно невелика карбаматна захисна група мінімізувала будь-які небажані стерічні особливості, які могли вплинути на замикання кільця CD і АВ. І, нарешті, незважаючи на очевидну гнучкість, введену в кільцеву систему CD шляхом видалення амиду, визнання того, що жорстка кільцева система АВ разом із своїм цис-амідом контролює конформацію навколишньої кільцевої системи CD гарантує, що кільцева система ABCD, а також кінцевий аналог мав би загальну конформацію, аналогічну конформації ванкоміцину.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						26
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Загальна синтетична стратегія спиралася на синтетичний шлях, розроблений для повного синтезу аглікону ванкоміцину і згодом прийнятий для амінометиленового аглікону ванкоміцину 242 [14]. Ключовим для його синтезу був обраний залишок 4 тіоаміду, який буде перетворено на амідину на кінцевій стадії та проведено на повністю функціоналізованому та знятому захисті агліконі ванкоміцину. Згідно з дизайном, цей підхід дозволяє дивергентний синтез додаткових кишенькових модифікованих аналогів ванкоміцину із загального проміжного продукту пізньої стадії, включаючи заміщені амідини та похідні амінометилену 242. Його реалізація вимагала розробки нової реакції для такого прямого одностадійного утворення амідину лише на субстратах розчиняється в протонних розчинниках. Під час роботи було встановлено емпіричним шляхом, що введення залишку 4 тіоаміду може бути ефективно введено лише на ранній стадії синтетичного проміжного продукту, створюючи безліч проблем для подальшого повного синтезу та вимагаючи помітних змін у підході.

Було виявлено, що виявляються подвійні властивості зв'язування лігандів, кожен з яких має однакову спорідненість до D-Ala-D-Ala або D-Ala-D-Lac. Амідин продемонстрував більшу спорідненість до обох лігандів, встановивши його продуктивну поведінку, навіть якщо його успіх не був очевидним на початку досліджень. Крім того, амідин 243 зв'язував обидва ліганди зі спорідненістю, майже еквівалентною тій, яка виявлена для ванкоміцину та його зв'язування з D-Ala-D-Ala, ефективно імітуючи цю останню поведінку. Однак амідин 243 також зв'язує ліганд D-Ala-D-Lac у 600 разів краще, ніж ванкоміцин. Найбільш примітним є те, що амідин 243 виявився еквіпотенційним до ванкоміцину, але тепер також виявляє таку активність проти стійких до ванкоміцину організмів. Настільки ж дивовижним і спочатку несподіваним є те, що тіоамід 244 не зміг зв'язати ні D-Ala-D-Ala, ні D-Ala-D-Lac і не виявляв антимікробної активності ні проти чутливих, ні проти стійких до ванкоміцину бактерій. Це було пов'язано зі збільшенням

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						27
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

розміру атома сірки та більшою довжиною тіокарбонільного зв'язку, які служать для витіснення ліганду з кишені зв'язування. Ця поведінка, яка відрізняється від поведінки 243 і 242, підкреслює, наскільки успішною є поведінка 243 і 242. Він також забезпечує привабливу мішень для підготовки за допомогою примусового біосинтезу, забезпечуючи аналог ванкоміцину, здатний до напівсинтетичного перетворення в активні кишенькові модифіковані ванкоміцини, які не перешкоджатимуть росту організмів-продуцентів.

Богер розпочав спроби встановити дисахарид у рамках підготовки до їх більш повного дослідження [28]. Використання методології для повного синтезу трьох кишенькових модифікованих аналогів, кожен з яких несе зміну одного атома в структурі ванкоміцину. Маючи залишки 4 модифікованих ванкоміцинів, Богер додатково продовжив розробку аналогів, які мали б ще більшу ефективність. Однією з найбільш широко визнаних периферичних модифікацій глікопептидних антибіотиків є гідрофобна заміна вільних амінів ванкозаміну, вперше відкрита в Е. Ліллі та натхненна ліпофільними ацильними групами, знайденими в тейкопланіні. На сьогоднішній день три напівсинтетичних аналогів; оритаванцин (259, 2014, The Medicines Company), телаванцин (260, 2009, Theravance), і далбаванцин (261, 2014, Vicuron Pharmaceuticals Inc.), які містять таку заміну, були схвалені для клінічного застосування. Важливо, що гідрофобний замісник посилює дію антибіотиків як проти чутливих, так і стійких до ванкоміцину патогенів [14]. Богер дослідив заміщення (4-хлорбіфеніл)метильної (ХБФ) групи ванкозаміну в залишку 4 модифікованих похідних ванкоміцину. синтетичний підхід спирався на 3- або 4-етапний шлях від повністю функціональних і вільних від захисних груп кишенькових модифікованих агліконів ванкоміцину. Ця послідовність включала два послідовних ферментативних глікозилювання, первинне N-алкілювання аміну через відновне амінування, і, у випадку амідину, AgOAc–NH₃ сприяв утворенню амідину із залишку 4 тіоаміду [28].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						28
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Підсумок антимікробної активності *in vitro* кишенькових модифікованих аналогів ванкоміцину представлено таким чином. Як і очікувалося, введення дисахариду на залишок 4 модифікованих агліконів ванкоміцину не змінило їхню антимікробну ефективність. Подібно до агліконів, послідовне покращення активності проти стійких до ванкоміцину бактерій (VanA VRE) спостерігалось з 267 і 266, що відображало їх спорідненість зв'язування з подвійним лігандом і де активність амідину 266 відповідала ефективності ванкоміцину, що спостерігається проти чутливих бактерій. Введення ХБФ у ванкоміцин підвищило ефективність проти чутливих до ванкоміцину та резистентних до ванкоміцину штамів (VSSA та MRSA) у 20 разів та 100 разів відповідно, але 268 все ще залишається майже в 100 разів менш активним щодо бактерій, стійких до ванкоміцину. Як ХБФ-амідин 270, так і ХБФ-амінометилен 271 показали 100-кратне збільшення антибіотичної активності проти VRE (VanA) і продемонстрували такий самий рівень ефективності проти чутливих до ванкоміцину бактерій (наприклад, VSSA та MRSA), відновлюючи потужну антимікробну активність проти бактерій, стійких до ванкоміцину. Важливо, що введення замісника ХБФ у тіоамід ванкоміцину, який не має здатності зв'язувати D-Ala-D-Ala/D-Ala-D-Lac, забезпечило аналог 269, який демонстрував менш активну, але однаково потужну активність проти чутливих до ванкоміцину та стійкі штами. Це відображає антибактеріальну активність, отриману від другого механізму дії, незалежного від зв'язування D-Ala-D-Ala/D-Ala-D-Lac, який відповідає за покращену активність усіх аналогів ХБФ. Цей другий механізм дії передбачає пряме інгібування трансглікозилази, що також призводить до інгібування біосинтезу клітинної стінки бактерій [9].

У розширенні цих останніх досліджень Богер включив другу периферичну модифікацію в кишенькові модифіковані аналоги ванкоміцину, які забезпечили інший другий механізм дії, незалежний від зв'язування D-Ala-D-Ala/D-Ala-D-Lac, і продемонстрував, що протимікробна активність

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						29
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

аналогічно зросла у 200 разів проти VanA VRE. Крім того, цю модифікацію С-кінця можна поєднати з периферичним Модифікація ХБФ для забезпечення ще більш потужних протимікробних агентів, активність яких можна пояснити трьома незалежними механізмами дії, лише один із яких вимагає зв'язування D-Ala-D-Ala/D-Ala-D-Lac. Важливо, що такі модифіковані ванкоміцини периферичної та зв'язувальної зони виявляють невелику схильність до набутої резистентності, і вони демонструють довговічність, а також підвищену ефективність, які слідує передбачуваним тенденціям: $3 > 2 > 1$ механізми дії.

У цих дослідженнях досліджували додаткову периферичну модифікацію на С-кінці, вводячи амід, що несе постійний катіонний заряд. Різноманітність комерційно доступних солей четвертинного амонію використовуються як антимікробні агенти, і відомо багато катіонних природних протимікробних пептидів, які порушують цілісність клітинної мембрани та підвищують проникність клітинної стінки [18; 26].

Нещодавно Халдар виявив, що така функціоналізація ванкоміцину забезпечила сполуки, активні проти стійких до ванкоміцину бактерій, хоча й без пригнічення біосинтезу клітинної стінки бактерії та демонструючи незалежний спосіб дії. Таким чином, Богер передбачив модифікації, спочатку зосереджені на поєднанні модифікації зв'язувальної кишені та функціоналізації четвертинної амонієвої солі С-кінця. Це дослідження було проведено з [Ф[CH₂NH]Trp₄]ванкоміцином (267), найбільш доступним кишеньковим модифікованим аналогом ванкоміцину, доступним шляхом повного синтезу. Він також представляє найменш потужний з двох кишенькових модифікованих аналогів, що дозволяє найбільш точна оцінка впливу послідовних периферійних модифікацій. Кілька амінів, що містять різноманітні солі четвертинного амонію, були приєднані до С-кінцевої карбонової кислоти ванкоміцину в модифікованих умовах реакції, щоб отримати продукти сполучення 272–276 із виходом 58–68%. Наступні

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						30
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

антимікробні оцінки показали, що тетрадецилзаміщена сіль амонію була найпотужнішою похідною, посилюючи антибактеріальну активність проти VanA VRE у 125 разів. Таким чином, тетрадециламонієву сіль вводили до амінометилєванкоміцину 267 за тих же умов сполучення, щоб отримати 276 з виходом 64%. Цей периферійно модифікований кишеньковий аналог 276 продемонстрував більш потужну антимікробну активність, додатково збільшуючи активність у 200 разів, і він пригнічував ріст бактеріальних клітин VanA VRE за допомогою двох незалежних механізмів дії, лише один з яких покладався на подвійний D-Ala-D-Ala/ зв'язування D-Ala-D-Lac [37].

Було завершено низку загальних синтезів членів групи глікопептидних антибіотиків, пов'язаних із ванкоміцином, їх агліконів і ключових аналогів. Ключем до їхнього успіху була розробка або просування нової синтетичної методології, яка використовувалася для отримання субодиниць неприродних амінокислот. Потужна методологія макроциклізації була розроблена або прийнята для закриття 12-, 14- та 16-членних кільцевих систем з вбудованим біарилом або діаріловим ефіром, зшитих поперечно, з використанням кінетичних, термодинамічних або впорядкованих коригувань для введення нетрадиційних елементів осьової або планарної хіральності (атропізомерів), виявленої в окремих кільцевих системах. Зрештою, для введення вуглеводів були розроблені хімічні або ферментативні методи. Окрім повного синтезу самих натуральних продуктів, це забезпечило основу, на якій можна підготувати раніше недоступні, але важливі синтетичні аналоги, які містять глибоко вкорінені модифікації. Такі зусилля вже забезпечили не тільки ключові, раціонально сконструйовані аналоги ванкоміцину, які стосуються основної молекулярної основи резистентності до ванкоміцину, але вони навіть забезпечили подальші модифіковані похідні, які демонструють чудову антимікробну ефективність, численні незалежні механізми дії та антимікробну довговічність [29].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						31
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Ванкоміцин – один із глікопептидних антибіотиків, що інгібує синтез пептидоглікану клітинної стінки мікроорганізмів. Він виявляє сильний пригнічуючий ефект на грампозитивні бактерії, такі як коагулазонегативні стафілококи, стійкі до пеніциліну штами *Streptococcus pneumoniae*; грампозитивні бацили, такі як *Bacillus anthracis* і *Bacillus cereus*; коринебактерії, такі як *Corynebacterium diphtheriae* і *C. jeikeium*; і багато клінічно важливих видів клостридій, таких як *C. difficile*, *C. perfringens*, *C. botulinum* і *C. septicum*, які чутливі до ванкоміцину. Внутрішньошлункове застосування ванкоміцину є ефективним терапевтичним режимом лікування стафілококового вентрикуліту, асоційованого з шунтуванням.

Імобілізовані цілі клітини широко використовуються у виробництві промислово важливих хімічних речовин, а також важливих фармацевтичних сполук. Як правило, іммобілізацію клітин можна здійснити шляхом захоплення мікроорганізмів у пористі полімери чи мікрокапсули або шляхом зв'язування з органічною чи неорганічною опорною матрицею. Адсорбція на додаток до простоти має можливі переваги зменшення або усунення проблем масообміну, пов'язаних із клітинами, захопленими полімером. Імобілізованими клітинами виробляються різні антибіотики, такі як ніккоміцин, окситетрациклін, пеніцилін, рифаміцин, циклоспорин та інші антибіотики. Багато дослідників вивчали фактори та хімічний склад середовищ, що сприяють ферментаційному виробництву ванкоміцину вільними клітинами [9].

Однак Падма та ін. (2002) досліджували оптимальні умови процесу, тобто рН, температуру, розмір інокулята, перемішування та аерацію для виробництва ванкоміцину за допомогою *Amicycolatopsis orientalis* ATCC 43491, і криві поверхні відповіді досягли 686 мкг/мл у 250-мл колбі для струшування. Наскільки нам відомо, це перший звіт про виробництво ванкоміцину іммобілізованими клітинами *A. orientalis* NRRL 2450 за допомогою методів захоплення та адсорбції [29].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						32
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Ванкоміцин – це препарат останньої інстанції для лікування метицилінрезистентних інфекцій *Staphylococcus aureus*. Крім того, пацієнти з алергією або інфіковані бактеріями, стійкими до бета-лактамів, використовують ванкоміцин як альтернативне лікування. Через низьку абсорбцію в шлунково-кишковому тракті пероральний ванкоміцин також рекомендований для лікування ентеробактерій, особливо при коліті, викликаному *Clostridium difficile*. Ванкоміцин входить до Переліку основних лікарських засобів і критично важливого протимікробного засобу для медицини. Одна доза 125 мг ванкоміцину коштує приблизно від 5 до 33 доларів США. Зараз він доступний як генеричний препарат і продається за нижчою ціною. Комерціалізація дженерика ванкоміцину робить будь-які заходи економії в ланцюзі постачання ванкоміцину комерційно привабливими.

Ванкоміцин біосинтезується видом ґрунтових актиноміцетів *Amycolatopsis orientalis*. Декілька досліджень були зосереджені на сировині для виробництва ванкоміцину. У кількох дослідженнях гліцерин використовувався як джерело вуглецю для виробництва ванкоміцину. Повідомляється, що вихід із гліцерином у середовищі був у 3,5 рази вищим, ніж із розчинним крохмалем, вищим, ніж з мальтозою та сахарозою, і порівнянним з фруктозою. Повідомлялося, що соєві боби є ефективним джерелом азоту для виробництва ванкоміцину. Концентрація ванкоміцину в соєвому борошні була вищою, ніж у типових джерелах азоту для бактеріальних культур: у 2,3 рази вищою, ніж у дріжджовому екстракті, на 15% вищою, ніж у картопляному білку, і на 26% вищою, ніж у соїтоні [22].

Amycolatopsis – грампозитивні міцеліальні ґрунтові бактерії з високим геномним вмістом G + C і складним життєвим циклом. Вони викликають науковий та економічний інтерес, оскільки виробляють широкий спектр вторинних метаболітів, включаючи антибіотики, протипухлинні засоби, інсектициди та гідролітичні ферменти. Однак мало відомо про регуляцію

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		33

використання вуглецю та транспортування вуглеводів, а також про те, як вони впливають на вторинне метаболічне виробництво, таке як антибіотик. Було показано, що зміни умов навколишнього середовища впливають на вторинний метаболіт, такий як виробництво антибіотиків. Хоча багато мікроорганізмів здатні використовувати різноманітні вуглецеві та енергетичні субстрати та адаптувати своє ферментативне обладнання, свій метаболізм спеціально для наявності даного субстрату чи суміші субстратів. Крім того, зміна температури, значення рН або напруги розчиненого кисню призводить до різких змін у питомій швидкості росту та концентрації продукту. Сама зміна швидкості росту в хемостатній культурі за умов обмеження вуглецю призводить до також різної моделі продукту, оскільки деякі джерела вуглецю можуть включатися як попередники або їхні аміногрупи переходять до конкретних проміжних продуктів. Таким чином, оптимізація виробництва антибіотиків у штамів актиноміцетів є однією з головних цілей досліджень впливу умов культивування. Як важливий штам актиноміцетів, штам *Amycolatopsis orientalis* продукує глікопептидний антибіотик ванкоміцин. ефективний при інфекціях, викликаних MRSA, які надзвичайно важко лікувати, оскільки вони також стійкі до багатьох антибіотиків. У цьому дослідженні кореляція між змінами позаклітинного рівня глюкози та гліцерину та кривою росту, рівнями позаклітинного рН та виробленням ванкоміцину *A. orientalis* протягом інкубаційного періоду досліджували концентрацію глюкози та гліцерину [33].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						34
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

2 ХАРАКТЕРИСТИКА ГОТОВОГО ПРОДУКТУ, СИРОВИНИ, МАТЕРІАЛІВ, НАПІВПРОДУКТІВ

2.1 Характеристика готового продукту

Антибіотик – глікопептид «Ванкоміцин» у флаконах. 1 флакон містить: активну речовину: ванкоміцину гідрохлориду (у перерахунку на безводну речовину) – 500 мг або 1000 мг.

Форма випуску – ліофілізат для приготування розчину для інфузій, 500 мг та 1000 мг. У флакони безбарвного скла, герметично закупорені гумовими пробками, з обкаткою ковпачками алюмінієвими або алюмо-пластиковими. 1 флакон разом з інструкцією із застосування поміщають у пачку з картону. 10 або 25 флаконів з рівною кількістю інструкцій із застосування поміщають у коробку з картону (для стаціонарів).

Показники якості препарату наведені в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Показники якості «Ванкоміцину»

Показники	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Ліофілізована маса від білого до білого з жовтуватим або рожевим відтінком кольору.	Візуальний, органолептичний
Ідентичність	На хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основного піка має відповідати часу утримування основного піка на хроматограмі розчину порівняння	Хроматографічний, ДФУ
Прозорість	Препарат має бути прозорим	ДФУ
pH	2,5-4,5	Потенціометричний, ДФУ

Продовження таблиці 2.1

1	2	3
Густина	Оптична густина одержаного розчину виміряна за довжини хвилі 450 нм, не має перевищувати 0,10	ДФУ
Об'єм, що витягається	Субстанція має містити не менше 90,0% і не більше 115,0% від номінального вмісту	ДФУ
Герметичність	Препарат повинен бути герметичний	Методика
Стерильність	Має бути стерильним	Метод прямого посіву, ДФУ
Нешкідливість	Препарат має бути нешкідливим	Біологічний, ДФУ
Специфічна активність	Цілісний препарат повинен пригнічувати свічення люмінесцентного штаму <i>E. coli</i> не менше ніж на 95% через 30 хв спільної експозиції	Біоломінесценція
Упаковка	1 флакон з інструкцією із застосування в картонній пачці	
Транспортування	При температурі не вище 25 °С	
Зберігання	Приготований для внутрішньовенної інфузії розчин препарату зберігати в холодильнику при температурі 2-8 °С не більше 14 днів або при температурі не вище 25 °С до 24 годин. Зберігати у недоступному для дітей місці	
Термін придатності	2 роки	

Фармакодинаміка

Ванкоміцин є трициклічним глікопептидним антибіотиком, продукується *Amycolatopsis orientalis*, діє бактерицидно на більшість мікроорганізмів (на ентерококи – бактериостатично). Антибіотик блокує синтез клітинної стінки бактерій у ділянці, відмінному від того, на який діють пеніциліни та цефалоспорини (не конкурує з ними за ділянки зв'язування), міцно зв'язуючись з D-аланіл-D-аланіновою частиною попередника клітинної

стінки, що призводить до лізису клітини. Здатний також змінювати проникність клітинних мембран бактерій та вибірково гальмувати синтез РНК.

In vitro ванкоміцин активний щодо грампозитивних мікроорганізмів, включаючи *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (в т.ч. гетерогенні метицилін-стійкі штами), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* (в т.ч. пеніцом) *agalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus spp.* групи 2 *viridians*, *Clostridium difficile* (в т.ч. токсигенні штами, що беруть участь у розвитку псевдомембранозного коліту) та *Corynebacterium spp.* Діє бактеріостатично на *Enterococcus spp.* (в т.ч. *Enterococcus faecalis*). До інших мікроорганізмів, чутливих до ванкоміцину *in vitro*, відносяться *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*

Оптимум дії при рН 8, при зниженні рН до 6 ефект різко зменшується. Активно діє лише мікроорганізми, що у стадії розмноження. *In vitro* деякі ізольовані штами ентерококів та стафілококів виявляють стійкість до ванкоміцину. Комбінація ванкоміцину та аміноглікозидів виявляє синергізм *in vitro* щодо багатьох штамів *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* (що не належать ентерогрупі D) *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.* групи *viridians*.

Стойкі майже всі грамнегативні бактерії, *Mycobacterium spp.*, Гриби, віруси, найпростіші. Немає перехресної резистентності з іншими антибіотиками. При застосуванні внутрішньо не має системної дії, діє локально на чутливу мікрофлору в шлунково-кишковому тракті (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*).

Фармакокінетика

У осіб із нормальною функцією нирок багаторазове внутрішньовенне введення (в/в) 1 г ванкоміцину (15 мг/кг; інфузія протягом 60 хв) створює середні концентрації у плазмі близько 63 мг/л безпосередньо після завершення інфузій. Через 2 години після інфузії середні концентрації в плазмі становили близько 23 мг/л, а через 11 годину - близько 8 мг/л. Багаторазові інфузії 500 мг

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						37
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

(інфузія протягом 30 хв) створювали середні концентрації в плазмі близько 49 мг/л після завершення інфузій. Через 2 години після інфузії середні концентрації в плазмі становили близько 19 мг/л, а через 6 годин – близько 10 мг/л. Концентрації речовини у плазмі при багаторазовому введенні аналогічні концентраціям у плазмі при одноразовому введенні.

Період напіввиведення ($T_{1/2}$) при нормальній функції нирок: дорослі – 4-6 год, новонароджені – 6-10 год, немовлята – 4 год, діти старшого віку – 2-3 год. Близько 75% введеної дози ванкоміцину виводиться нирками шляхом клубочкової фільтрації у перші 24 год. Середній плазматичний кліренс становить близько 0,058 л/кг/год, а середній кліренс нирковий - близько 0,048 л/кг/год. Нирковий кліренс ванкоміцину досить постійний і забезпечує його виведення на 70-80 %. Об'єм розподілу коливається від 0,3 до 0,43 л/кг. Ванкоміцин практично не метаболізується. При концентрації антибіотику у сироватці крові від 10 мг/л до 100 мг/л, 55% ванкоміцину зв'язується з білком стані. У невеликих кількостях виводиться із жовчю.

Після внутрішньовенного введення ванкоміцин виявляється у плевральній, перикардальній, синовіальній рідині, у тканині вуха передсердя, а також у сечі та в перитонеальній рідині в концентраціях, що пригнічують ріст мікроорганізмів. Ванкоміцин повільно та незначно проникає через гематоенцефалічний бар'єр у нормі, але при менінгіті його концентрація у лікворі досягає бактерицидних значень. Антибіотик проникає через плацентарний бар'єр і грудне молоко.

Порушення функції нирок уповільнює виведення ванкоміцину. У пацієнтів із відсутніми нирками середній $T_{1/2}$ становить 7,5 днів, при хронічній нирковій недостатності – 6-10 днів. Загальний системний та нирковий кліренс ванкоміцину може бути знижений у пацієнтів похилого віку внаслідок природного уповільнення клубочкової фільтрації. Погано адсорбується при пероральному прийомі і зазвичай не проникає в системний кровотік. Плазмові концентрації ванкоміцину, що визначаються, можуть

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						38
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

спостерігатися в окремих випадках при багаторазовому застосуванні внутрішньо у пацієнтів з гострим псевдомембранозним колітом, викликаним *Clostridium difficile*.

Показання до застосування

Для внутрішньовенних інфузій

Ванкоміцин застосовується при серйозних або тяжких інфекціях, спричинених чутливими мікроорганізмами, у тому числі *Staphylococcus spp.* (включаючи пеніцилінозатворювальні та метицилін-резистентні штами), *Streptococcus spp.* (включаючи штами, резистентні до пеніциліну); при алергічній реакції на пеніцилін; при інфекціях, викликаних мікроорганізмами, чутливими до ванкоміцину, але стійкими до інших протимікробних препаратів: при непереносимості чи відсутності відповіді на лікування іншими антибактеріальними препаратами, включаючи пеніциліни або цефалоспорини;

• Ендокардит:

– викликаний *Streptococcus viridans* або *Streptococcus bovis* (як монотерапія або комбінація з аміноглікозидами);

– викликаний ентерококами, наприклад, *Enterococcus faecalis* (тільки у комбінації з аміноглікозидами);

– ранній ендокардит, спричинений *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp.* після протезування клапана (у комбінації з рифампіцином, аміноглікозидами або з обома 4 антибіотиками);

профілактика ендокардиту у пацієнтів з реакціями гіперчутливості до антибактеріальних препаратів пеніцилінового ряду.

– Сепсис

– Інфекції кісток та суглобів (у тому числі остеомієліт)

– Інфекції нижніх дихальних шляхів (пневмонія, абсцес легені)

– Інфекції шкіри та м'яких тканин

– Інфекції центральної нервової системи (менінгіт)

Для прийому внутрішньо

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						39
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

- Псевдомембранозний коліт, викликаний *Clostridium difficile*
- Ентероколіт, спричинений *Staphylococcus aureus*

Протипоказання

Підвищена чутливість до ванкоміцину, інших компонентів препарату, неврит слухового нерва.

З обережністю застосовують антибіотик, якщо є порушення слуху (в т.ч. в анамнезі), ниркова недостатність (через можливий розвиток ототоксичних та нефротоксичних ефектів), пацієнтам з алергією на тейкопланін (можливість перехресної алергії).

Немає достатніх даних щодо безпеки застосування ванкоміцину при вагітності. Оцінка результатів експериментальних досліджень на тваринах не виявила впливу ванкоміцину на розвиток ембріона, плода та перебіг вагітності. У контрольованих клінічних дослідженнях ванкоміцин вводили внутрішньовенно вагітним жінкам з тяжкою стафілококовою інфекцією. Ванкоміцин був виявлений у пуповинній крові. Випадків нейросенсорної приглухуватості або нефротоксичності, пов'язаних з ванкоміцином, не було зазначено. Одна дівчинка, чия мати отримувала ванкоміцин у III триместрі вагітності, страждала на кондуктивну приглухуватість, що не було пов'язано із застосуванням ванкоміцину. Оскільки кількість пацієнтів у цьому дослідженні була обмежена і ванкоміцин вводили жінкам лише у II та III триместрі вагітності, то точних даних про вплив ванкоміцину на плід отримано не було.

Препарат Ванкоміцин слід застосовувати при вагітності тільки у разі крайньої необхідності, під контролем концентрації ванкоміцину в крові, щоб мінімізувати ризик токсичної дії ванкоміцину на плід. Ванкоміцин виділяється із грудним молоком. При необхідності застосування препарату в період грудного вигодовування слід вирішити питання щодо припинення грудного вигодовування.

Спосіб застосування та дози

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						40
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Для внутрішньовенних (в/в) інфузій та прийому внутрішньо. Не можна вводити антибіотик внутрішньом'язово (в/м) та внутрішньовенно болюсно.

Для внутрішньовенних інфузій

Швидкість введення антибіотика трохи більше 10 мг/мин, тривалість введення не менше 60 хвилин. Рекомендована концентрація становить трохи більше 5 мг/мл. Пацієнтам, яким показано обмеження споживання рідини, може застосовуватися концентрація антибіотика до 10 мг/мл та швидкість введення, що не перевищує 10 мг/хв. Однак у разі застосування таких концентрацій антибіотика зростає можливість розвитку побічних явищ, пов'язаних з інфузією. Дорослим та дітям віком від 12 років (з нормальною функцією нирок) можна призначати: по 500 мг кожні 6 годин або по 1 г кожні 12 годин. Максимальна добова доза складає 2 г. Дітям віком від 1 місяця до 12 років: по 10 мг/кг внутрішньовенно кожні 6 годин. Кожну дозу слід вводити протягом не менше 60 хв. Максимальна добова доза для дитини не повинна бути вищою за добову дозу для дорослого (2 г).

Дітям віком до 1 місяця початкова доза антибіотика по 15 мг/кг, а потім 10 мг/кг кожні 12 годин протягом першого тижня життя та кожні 8 годин у віці від 2 тижнів до одного місяця. Кожну дозу антибіотика слід вводити не менше 60 хв. Максимальна разова доза для немовлят становить 15 мг/кг маси тіла, добова доза для дитини не повинна перевищувати добову дозу для дорослого (2 г). У таких пацієнтів доцільно проводити ретельний моніторинг концентрації антибіотика у плазмі крові.

Пацієнтам з порушенням функції нирок необхідно індивідуально підбирати дозу відповідно до кліренсу креатиніну (КК). У літніх пацієнтів ванкоміцин має більш низький кліренс і більший обсяг розподілу. У цієї групи добір доцільно проводити на підставі концентрацій ванкоміцину в сироватці крові. Пацієнтам з анурією лікування починають з дози 15 мг/кг маси тіла для швидкого створення терапевтичних концентрацій ванкоміцину в плазмі крові. протягом 7-10 днів.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						41
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Пацієнтам з вираженою нирковою недостатністю доцільно вводити дози, що підтримують, 250-1000 мг один раз на кілька днів.

Пацієнтам з вираженою нирковою недостатністю доцільно коригувати дозу шляхом збільшення інтервалів між введеннями: при КК 10-50 мл/хв – по 1 г антибіотика кожні 3-7 днів, при КК <10 мл/хв – по 1 г кожні 7-14 днів. Для недоношених дітей та пацієнтів похилого віку внаслідок зниженої функції нирок може знадобитися значне зниження дози.

Приготування розчину ванкоміцину для внутрішньовенного введення: Ліофілізат антибіотика розчиняють у воді для ін'єкцій: 500 мг – 10 мл, 1000 мг – 20 мл (концентрація розчину становить 50 мг/мл). Отриманий розчин антибіотика підлягає подальшому розведенню 0,9% розчином натрію хлориду або 5% розчином декстрози до концентрації трохи більше 5 мг/мл (для 500 мг – 100 мл і для 1000 мг – 200 мл). Приготовлений розчин повинен бути прозорим і вільним від сторонніх частинок. Збирають розчин у холодильнику при температурі 2-8 °С протягом 14 днів, або при температурі не більше 25 °С до 24 годин. З мікробіологічної точки зору розчини антибіотика повинні бути застосовані негайно після розведення, якщо відновлення та розведення відбулося в контрольованих та стандартних умовах асептики. Перед самою інфузією приготований розчин для внутрішньовенного введення слід перевіряти візуально на зміну кольору та наявність механічних домішок. Розчин для інфузії застосовують після зігрівання до температури тіла.

Ванкоміцин може застосовуватися внутрішньо при псевдомембранозному коліті, асоційованому з *Clostridium difficile*, що виник після антибіотикотерапії, та стафілококовому ентероколіті, при чому в/в введення ванкоміцину в цих випадках не має переваг у порівнянні з прийомом внутрішньо.

Добова доза для дорослих – 2000 мг, розділена на 3-4 прийоми. Максимальна добова доза для дорослих – 2000 мг.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						42
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Добова доза для дітей – 40 мг/кг, розділена на 3-4 прийоми.
Максимальна добова доза для дітей – 2000 мг.

Приготування розчину для прийому внутрішньо

Вміст флакона (500 мг ванкоміцину) розчиняють у 30 мл води.
Приготований розчин можна приймати всередину або вводити через
назогастральний зонд.

Побічна дія

Порушення з боку органів крові та лімфатичної системи: лейкопенія,
оборотна нейтропенія, мінуща тромбоцитопенія, агранулоцитоз,
еозинофілія, панцитопенія, анемія. Порушення з боку серця, шок, васкуліт.
Порушення з боку шлунково-кишкового тракту: нудота, псевдомембранозний
коліт. слуху та лабіринтні порушення: мінуща або постійна втрата слуху,
зниження слуху, вертиго, шум у вухах. Порушення з боку дихальної системи,
органів грудної клітки та середостіння: задишка, дихальні шуми. Пухирчастий
дерматоз, сверблячий дерматоз, злоскісна ексудативна еритема (синдром
Стівенса-Джонсона), токсичний епідермальний некроліз; сечовини,
інтерстиціальний нефрит, гостра ниркова недостатність. клітки та спини,
озноб, лікарська лихоманка, біль у місці введення, некроз тканин у місці
введення.

Під час або незабаром після занадто швидкої інфузії ванкоміцину у
пацієнтів можуть розвинути анафілактоїдні реакції (зниження артеріального
тиску, аж до шоку та зупинки серця, дихальні шуми, задишка, висипання на
шкірі, свербіж). Швидке введення препарату також може викликати синдром
«червоної людини» (озноб, лихоманка, прискорене серцебиття, гіперемія
верхньої половини тулуба та обличчя, спазм м'язів грудної клітки та спини).
Після припинення інфузії реакції зазвичай проходять протягом 20 хвилин, але
іноді можуть тривати кілька годин.

У деяких пацієнтів, які отримували ванкоміцин, спостерігалися
симптоми ототоксичності. Вони можуть бути мінущі і носити постійний

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						43
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

характер. Більшість таких випадків спостерігалось у пацієнтів, які отримували високі дози ванкоміцину, з приглухуватістю та нирковою недостатністю в анамнезі або у пацієнтів, які отримували одночасне лікування іншими препаратами з можливим розвитком ототоксичності, наприклад, аміноглікозидами.

При передозуванні можливі прояви посилення виразності дозозалежних побічних явищ.

Лікування антибіотиком є симптоматичним. Рекомендується введення рідини та контроль плазмових концентрацій ванкоміцину. Речовина погано видаляється під час проведення діалізу.

Гемоперфузія та гемофільтрація через полісульфонову іонообмінну смолу призводять до збільшення кліренсу ванкоміцину.

Взаємодія з іншими лікарськими засобами

При одночасному застосуванні ванкоміцину та анестетиків відзначалися еритема та анафілактоїдні реакції (в т.ч. зниження артеріального тиску, висипання, кропив'янка та свербіж). Введення ванкоміцину у вигляді 60-хвилинної інфузії перед індукцією анестезії може зменшити ймовірність виникнення цих реакцій. Якщо антибіотик вводять під час або відразу після операції, при одночасному застосуванні міорелаксантів (наприклад, суксаметонія йодид), їх ефекти (нервово-м'язова блокада) можуть бути посилені і продовжені.

Ванкоміцин діє синергічно з аміноглікозидами, бета-лактамами та рифампіцином на чутливі мікроорганізми. Розчини бета-лактамних антибіотиків та ванкоміцину є фізично несумісними при змішуванні. Імовірність преципітації зростає із збільшенням концентрації ванкоміцину. Рекомендується знизити концентрацію ванкоміцину до 5 мг/мл та менше.

Перехресна стійкість між ванкоміцином та антибіотиками інших класів відсутня. Можлива перехресна стійкість між ванкоміцином та іншими глікопептидами (тейкопланін).

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						44
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

При одночасному застосуванні з нефро- та ототоксичними лікарськими засобами (амфотерицин В, аміноглікозиди, ацетилсаліцилова кислота або інші саліцилати, капреоміцин, бацитрацин, кармустин, паромоміцин, циклоспорин, поліміксин В, петлеві діуретики, цисплатин) слідкують за можливим розвитком симптомів ототоксичності (запаморочення та зниження слуху, шум у вухах) та нефротоксичності (збільшення концентрації креатиніну та сечовини у плазмі крові, протеїнурія, гематурія, висип, еозинофілія та еозинофілурія).

Колестирамін знижує активність антибіотика (для перорального застосування). Антигістамінні засоби, фенотіазини, меклозин, тіоксантени можуть маскувати симптоми ототоксичної дії ванкоміцину (шум у вухах, вертиго). Розчин ванкоміцину має низький рН, що може спричинити фізичну або хімічну нестабільність при змішуванні з іншими розчинами. Слід уникати змішування антибіотика із лужними розчинами.

Препарат Ванкоміцин вводять у вигляді розведеного розчину протягом не менше 60 хвилин, щоб уникнути побічних реакцій, пов'язаних з інфузією. Швидке введення (наприклад, протягом декількох хвилин) ванкоміцину супроводжується вираженим зниженням артеріального тиску і в окремих випадках зупинкою серця. При чому припинення інфузії швидко призводить до усунення інфузійних реакцій.

Пацієнтам, які отримують ванкоміцин внутрішньовенно, необхідно періодично проводити аналіз периферичної картини крові та контроль функції нирок.

Антибіотик Ванкоміцин слід застосовувати з обережністю у літніх пацієнтів віком від 60 років та пацієнтів з нирковою недостатністю оскільки високі концентрації ванкоміцину в плазмі крові, що зберігаються тривалий час, можуть збільшувати небезпеку прояву токсичної дії препарату (максимальні концентрації антибіотика не повинні перевищувати 40 мкг/мл, а мінімальні – 10 мкг/мл, концентрації понад 80 мкг/мл вважаються

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						45
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

токсичними). Відмічається, що для пацієнтів із нирковою недостатністю дози препарату повинні підбиратися індивідуально.

При застосуванні ванкоміцину можуть спостерігатися ознаки ототоксичності як тимчасові, так і постійні. Зазвичай прояв спостерігається у пацієнтів, які отримують високі дози, а також у пацієнтів з порушенням слуху або при одночасному застосуванні інших ототоксичних препаратів. Частота виникнення та тяжкість тромбофлебітів може бути зменшена за рахунок повільного введення розведених розчинів (з концентрацією 2,5-5,0 мг/мл) та чергування місць введення препарату. Ванкоміцин не вводять внутрішньом'язово внаслідок розвитку некрозу в місці введення.

Перед введенням антибіотика необхідно встановити чутливість мікроорганізмів до ванкоміцину. Тривале його застосування може призвести до появи стійких штамів бактерій та розвитку суперінфекції. Були описані поодинокі випадки псевдомембранозного коліту при внутрішньовенному застосуванні антибіотика.

Слід бути обережними при застосуванні антибіотика у зв'язку з тим, що можливий розвиток запаморочення, яке може вплинути на здатність керувати транспортними засобами та механізмами.

Ванкоміцин є одним з глікопептидних антибіотиків, що інгібують синтез пептидоглікану клітинної стінки мікроорганізмів. Антибіотик виявляє сильний пригнічуючий ефект на грампозитивні бактерії, такі як коагулазонегативні стафілококи, стійкі до пеніциліну штами *Streptococcus pneumoniae*; грампозитивні бацили, такі як *Bacillus anthracis* і *Bacillus cereus*; коринебактерії, такі як *Corynebacterium diphtheriae* і *C. jeikeium*; і багато клінічно важливих видів клостридій, таких як *C. difficile*, *C. perfringens*, *C. botulinum* і *C. septicum*, які чутливі до цього антибіотика.

Імобілізовані цілі клітини широко використовуються у виробництві промислово важливих хімічних речовин, а також важливих фармацевтичних сполук. Як правило, іммобілізація клітин може бути здійснена шляхом

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						46
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

захоплення мікроорганізмів у пористі полімери чи мікрокапсули або зв'язування з органічною чи неорганічною опорною матрицею. Адсорбція на додаток до простоти має можливі переваги зменшення або усунення проблем масообміну, пов'язаних із клітинами, захопленими полімером. Імобілізованими клітинами виробляються різні антибіотики, такі як нікоміцин, окситетрациклін, пеніцилін, рифаміцин, циклоспорин та інші антибіотики. Багато дослідників вивчали фактори та хімічний склад середовищ, що сприяють ферментаційному виробництву ванкоміцину вільними клітинами.

Важливим є дослідження оптимальних умов процесу, тобто pH, температури, розміру інокулята, аерацію для виробництва ванкоміцину за допомогою *Amycolatopsis orientalis* ATCC 43491.

2.2. Характеристика сировини

Характеристика сировини для виробництва антибіотика «Ванкоміцин» наведена у табл. 2.2.

Таблиця 2.2 – Характеристика сировини, що використовується при виробництві антибіотика «Ванкоміцин»

Найменування	Категорія та номер НТД	Показники НТД, обов'язкові для перевірки	Примітка
1	2	3	4
1. Основна сировина			
1.1. Бактопептон	ТУ 9385-226-78095326-2015	Усі показники за вимогами ТУ	Компонент поживного середовища для відновлення музейної культури
1.2. Вода деіонізована	ДСТУ 7525:2014	Кольоровість, каламутність, запах, pH (6,5-8,5), вміст мікроорганізмів, жорсткість (до 7 ммоль/дм ³)	Компонент поживного середовища

Продовження таблиці 2.2

1	2	3	4
1.3. Глюкоза	ДСТУ 4464:2005	Усі показники за вимогами ДСТУ	Компонент поживного середовища для відновлення музейної культури
1.4. Декстрин	ДСТУ 4643:2006	Масова частка вологи (до 5%), масова частка золи (до 0,5%)	Компонент поживного середовища
1.5. Борошно соєве	ДСТУ 4543:2006	Вологість до 9%, інші показники згідно ДСТУ	Компонент поживного середовища
1.6. Картопляний білок	ДСТУ 4286:2004	Масова частка вологи (до 20%)	Компонент поживного середовища
1.7. Солодовий екстракт	ДСТУ 4282:2004	Масова частка вологи (до 5%), масова частка екстракту в сухій речовині (від 80%)	Компонент поживного середовища для відновлення музейної культури
1.8. NaCl	ДСТУ 4233-77	Масова частка сульфатів (до 0,01%), калію (до 0,02%), магнію (до 0,005%),	Компонент поживного середовища
2. Матеріали			
2.1. Вода питна	ДСТУ 7525:2014	Мікробіологічна чистота згідно ДСТУ 7525:2014, pH 6,5-8,5, жорсткість загальна	Холодоагент, теплоагент, для подачі в сорочки реакторів, ферментерів
2.2. Кислота соляна	ДСТУ 2904-94	Масова частка соляної кислоти не менше 35-38%	Для коригування pH
2.3. Натрій гідроксид технічний	ДСТУ ISO 979-2001	Масова частка гідроксиду натрію не менше 42%	Для коригування pH, нейтралізації стічних вод
2.4. Перекис водню	ДСТУ 177-88	Масова частка перекису 30-40%	Для дезінфекції обладнання та приміщень
2.5. Спирт етиловий	ДСТУ 4221:2003	Об'ємна частка етилового спирту не менше 96,2%	Для дезінфекції обладнання та приміщень
2.6. Миючий засіб «Сульфонол»	ТУ 2481-106-07510508-2005	Масова частка 40%	Для дезінфекції обладнання та приміщень

1	2	3	4
2.7. АХД 2000	ООО «Лізофор Медікал»	Згідно технічного регламенту ООО «Лізофор Медікал»	Для дезінфекції рук персоналу
3. Проміжні продукти			
3.1. Флакони скляні	ДСТУ EN ISO 8362-4:2019	Маркування, цілісність, стерильність	Для фасування готового продукту
3.2. Фільтри різного ступеня очистки	ДСТУ 3493-96	Пропускна здатність	Для очищення повітря
3.3. Ковпачки до флакона скляного	ДСТУ EN ISO 8362-4:2019	Маркування, цілісність, стерильність	Для фасування готового продукту
3.4. Ковпачки з алюмінію та пластмаси до флакона скляного	ДСТУ EN ISO 8362-4:2019	Маркування, цілісність, стерильність	Для фасування готового продукту
3.5. Етикетка внутрішня	—	—	Для аркування флаконів
3.6. Картон пакувальний	ДСТУ 12301-2006	Маркування, цілісність	Пакувальний матеріал

2.3. Характеристика біологічного об'єкту

Історія роду *Amycolatopsis* тісно пов'язана з історією відкриття антибіотиків. Рід *Amycolatopsis* раніше широко використовувався як одне з найефективніших джерел продуцентів вторинних метаболітів з антибактеріальними, протигрибковими або противірусними властивостями і продовжує бути в центрі уваги при пошуку нових ліків сьогодні [21]. У золоту еру антибіотиків у 1950-х роках було відкрито ванкоміцин і споріднені глікопептиди (*Amycolatopsis orientalis*) і рифаміцин (*Amycolatopsis mediterranei*). Крім виробництва антибіотиків, повідомлялося про важливість штамів *Amycolatopsis* у промисловості та екології, а саме біоремедіації (іммобілізація важких металів, гербіцид і біодеградація полімерів) та біоконверсії (виробництво вуксістатину та ваніліну) [30]. Деякі представники роду *Amycolatopsis* спочатку були помилково ідентифіковані як *Streptomyces*

або *Nocardia*. Лише в 1986 році Лешевальє нарешті визнав *Amycolatopsis* як унікальний рід нокардіоформних актиноміцетів, які не містять міколевої кислоти, але містять мезо-діамінопімелінову кислоту, арабінозу та галактозу в пептидоглікані клітинної стінки. *A. orientalis* був першим зареєстрованим видом цього роду. Штами *Amycolatopsis* широко поширені і виділяються переважно з ґрунту. Крім того, штами *Amycolatopsis* були виділені з середньовічних галунових сланцевих шахт, лишайників, океанських опадів, рослинних речовин, комах, клінічних джерел, і плаценти коней. Відомо, що тільки чотири види *Amycolatopsis* мають патогенні властивості [32].

Станом на 2021 рік кількість офіційно прийнятих та опублікованих видів роду *Amycolatopsis* становить. Було зібрано геномні послідовності 120 штамів *Amycolatopsis*, серед яких 71 зібрано з типового матеріалу [33]. Геномні дослідження показали, що види *Amycolatopsis* мають геноми від 5,62 Mb (*A. granulosa* DSM 45669) до 10,94 Mb (*A. anabasis* EGI 650086) (в середньому приблизно 8,5–9 Mb), кільцеву хромосому та високий вміст GC ДНК (66–75 моль%) Пангеномний аналіз виявив стрижневий геном з 1212 генів з додатковим геномом з 27 483 генів і 33 342 унікальних генів [9, 31]. Завдяки такому значному пангеному види *Amycolatopsis* мають велику адаптаційну здатність. Основна частина допоміжних та унікальних генів штамів *Amycolatopsis* бере участь у біосинтезі вторинного метаболіту.

Штами типу *Amycolatopsis*, які продукують або мають потенціал продукувати певний клас антибіотиків, є філогенетично спорідненими. Завдяки цій філогенетичній кластеризації можна передбачити здатність нового штаму *Amycolatopsis* до виробництва антибіотиків за його асоціацією в дереві, сконструйованому з послідовностями генів біосинтезу антибіотиків. Слід зазначити, що наявність цих генів не обов'язково означає, що ці штами вироблятимуть антибіотик. Гени можуть взагалі не експресуватися в штамі (мовчазні гени) або можуть експресуватися лише за певних умов (наприклад, за певних умов середовища, таких як тип середовища, що використовується

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						50
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

для антибактеріального тестування). Крім того, якщо гени експресуються, антибіотик може не мати активності проти штамів, які використовуються в антибактеріальних скринінгових тестах. Цікаво відзначити, що гени біосинтезу антибіотиків були виявлені в кількох штамів типу *Amycolatopsis*, які, як відомо, не продукують антибіотики.

Сьогодні розуміння функціонування системи кластерами біосинтетичних генів (КБГ) разом із секвенуванням нового покоління дозволяє прогнозувати виявлення нових антибіотиків. У 2006 році аналіз геномного сканування *A. orientalis* ATCC 43491, депонованого як продуцента ванкоміцину, виявив наявність генетичних локусів для виробництва принаймні десяти вторинних метаболітів, крім ванкоміцину [10].

Скринінг культуральних рідин призвів до виділення нового лінійного полієнового антибіотика 13-гідрокси-2,12,14,16,22-пентаметил-28-(N-метил-гуанідино)октакоза-2,4,6,8,10,14,20,24-октаєнова кислота (2-гідрокси-5-оксо-циклопент-1-еніл)-амід, ЕСО-0501), який виявляв антибактеріальну активність проти кількох резистентних грампозитивних патогенів.

Послідовності бактеріального генома перевіряються на наявність ділянок, які, ймовірно, кодують виробництво вторинних метаболітів. Ксю та ін. повідомили про метод активації мовчазних КБГ у різноманітних мікроорганізмах [35]. Цей підхід ґрунтується на скринінгу еліситорів для індукції вторинного метаболіта даного штаму та мас-спектрометрії зображення для візуалізації отриманих метаболітів у відповідь на ~500 умов. Оскільки він не вимагає складних генетичних процедур, процедур клонування чи культивування, цей метод можна використовувати як із секвенованими, так і з несеквенованими бактеріями. Застосування цього методу до *Amycolatopsis keratiniphila* NRRL B24117 дозволило виявити дев'ять метаболітів глікопептидного хемотипу з потенційно терапевтичною біоактивністю. Кератиніміцини А і С показали потужну антибактеріальну активність проти численних грампозитивних патогенів з мінімальними інгібуючими

концентраціями (МІК), подібними до концентрацій ванкоміцину проти стрептококів, *Clostridium difficile* та *Enterococcus faecalis*.

З одного боку, виявлення ECO-0501 і кератиніміцинів є гідним прикладом використання методу сканування геному для ідентифікації та виділення нового класу антибактеріальних препаратів. Однак, з іншого боку, геномний майнінг не став ключовою технологією для вилучення природних вторинних метаболітів. Більшість природних продуктів КБГ, ідентифікованих у бактеріальних геномних і метагеномних спробах секвенування, мовчазні в лабораторних умовах росту. Кім та ін. представили метод активації КБГ, де кластери генів розбирають в інтеромеронних областях *in vitro* за допомогою CRISPR/Cas9, а потім повторно збирають за допомогою ампліфікованих за допомогою ПЛР коротких ДНК, що несуть синтетичні промотори, за допомогою рекомбінації за допомогою трансформації в дріжджах [21]. Цей метод *in vitro* розбирання/*in vivo* повторного збирання використовувався для активації атоліпенового КБГ з геному культивованого актиноміцета *Amycolatopsis tolypomycina* NRRL B-24205.30, що призвело до характеристики двох бактеріальних циклічних сестертерпенів, атоліпенів А і В, які є помірно цитотоксичними для раку людини клітинні лінії.

Найбільш значущі антибіотики з роду *Amycolatopsis* були виділені традиційним методом, який включає виділення та культивування актинобактерій із ґрунту, скринінг на інгібіторну активність у пробірці та виділення лідируючих молекул. Існує понад 100 сполук походження *Amycolatopsis* з описаною антибактеріальною активністю та/або доведеною присутністю гена біосинтезу антибіотиків. Найбільш урожайними є *A. orientalis* (12 антибіотиків), *A. mediterranei* (5 антибіотиків), *A. sulphurea* (3 антибіотики). Серед антибіотиків, які виробляє *Amycolatopsis*, є дві основні комерційно значущі групи: глікопептиди та полікетиди. Далі в тексті огляду ми обговоримо цей поділ.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						52
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Глікопептиди – це глікозильовані нерибосомні пептиди, що виробляються різними групами актиноміцетів. Глікопептидні антибіотики мають загальну структуру, що представляє собою гептапептид, що містить ароматичні амінокислоти, які зазнали інтенсивного окисного зшивання з утворенням макроциклів і несуть у різних положеннях такі мотиви, як залишки цукру, атоми хлору та ліпідні ланцюги. Серед актинобактерій відомим продуцентом глікопептидних антибіотиків є *A. orientalis* [10].

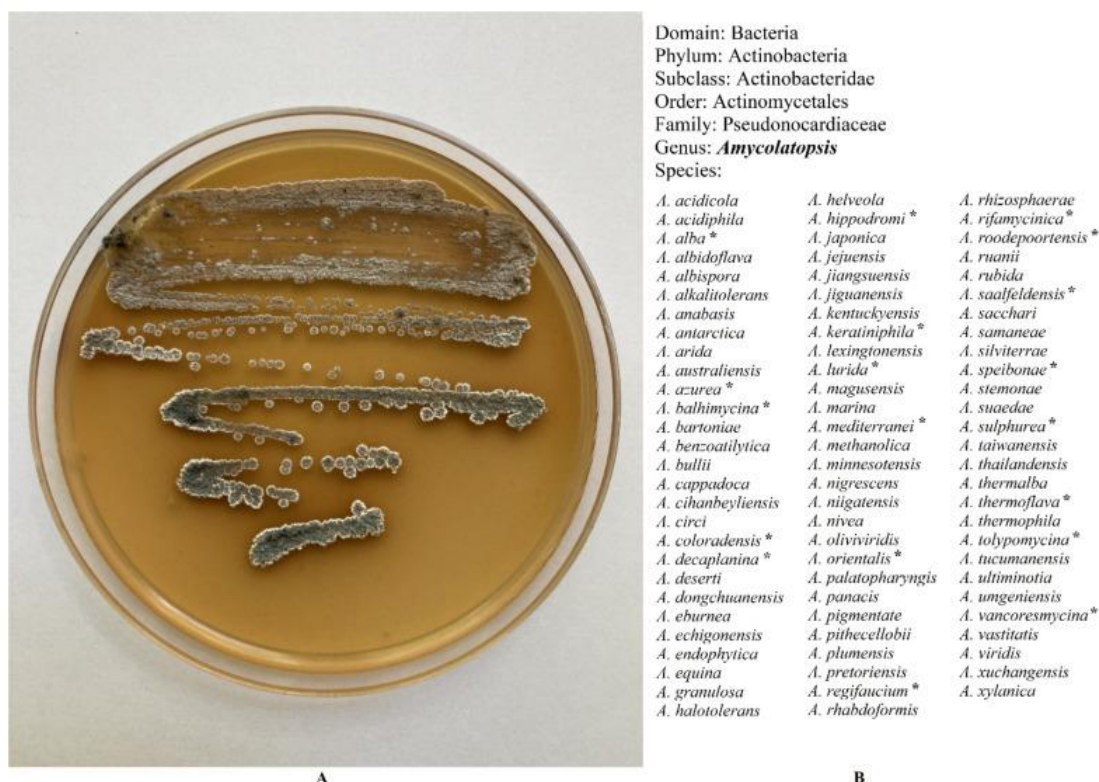


Рис. 2.1 – (А) *Amycolatopsis orientalis* – продуцент ванкоміцину. (В) Таксономічне положення родів *Amycolatopsis*.

У той час як метагеноміка та високопродуктивні інструменти секвенування розкривають видову різноманітність мікробних спільнот і ідентифікують генетичні кластери для виробництва антибіотиків, які не були виявлені за допомогою культуральних підходів, ізоляція монокультури мікроорганізмів все ще важлива для виявлення біоактивних сполук. Однак,

щоб ефективно отримати актинобактерії для відкриття нових ліків, необхідно оцінити, де шукати нових продуцентів з точки зору географії та конкретних екологічних систем. Основні надії на відкриття нових антибіотиків пов'язані з мікроорганізмами, виділеними з екстремальних або незвичайних середовищ, які характеризуються такими складними умовами, як посушливість, висока солоність, низькі джерела поживних речовин, екстремальні температури та особливо складний склад видів мікроорганізмів. Іншими альтернативними перспективними джерелами спеціалізованих метаболітів є мікробіота різноманітних еукаріотичних господарів, включаючи рослини, комах, губки та людей. Еволюція мікроорганізмів із таких середовищ існування відбувається особливим шляхом, що зумовлено географічною та/або генетичною ізоляцією та адаптацією до екстремальних умов. Тому є ймовірність виявлення серед таких ендемічних видів унікальних метаболізмів, продуктами яких є нові антибіотики. За останні п'ять років було виділено та описано кілька нових антибіотиків, що виробляються різними штамми *Amycolatopsis*. Більшість з них знаходяться в особливих екологічних умовах [34].

2.4. Біосинтез цільового продукту

Ванкоміцин містить агліконовий фрагмент, утворений відносно висококонсервативним ядром гептапептиду, що має два хлоридні замісники, а також ванкоміцин містить два цукри. Фракція аглікону відповідає за фармакологічну активність антибіотика, тоді як цукри регулюють гідрофільність речовини і схильність до утворення димерів. Через свої великі розміри глікопептиди не здатні проникати через зовнішню мембрану грамнегативних бактерій.

Для промислового виробництва ванкоміцину використовують *Amycolatopsis orientalis* – спороутворювальна мезофільна бактерія, яку

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						54
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

виросшую на поживних середовищах, що містять як джерело азоту аспарагін, тирозин, пролін, гідролізат казеїну, триамонію цитрат, соєву макуху, дріжджовий екстракт, пептони, арахісове борошно, паростки квасолі, сої чи гороху, відвар кукурудзи, нітрати натрію/калію/амонію (джерело макро– та мікроелементів) тощо; як джерело вуглецю використовується лактоза, сахароза, глюкоза, маноза, фруктоза, мальтоза, ксилоза, маніт, крохмаль, декстрин, арабінозу, трегалозу, інозит, целобіоза, гліцерол, солодовий екстракт, меляса, екстракт пшеничних чи рисових висівок, рисове, ячмінне чи пшеничне борошно тощо.

Для забезпечення *Amycolatopsis orientalis* джерелами мікро– та макроелементів, для регулювання кислотності середовища, використовуються мінеральні солі, такі як хлорид натрію, карбонат кальцію, сульфат амонію, нітрат натрію, сульфат магнію, дигідрофосфат натрію тощо.

При нестачі амінокислот та інших джерел азоту ріст біомаси *Amycolatopsis orientalis* буде обмежений, а концентрація ванкоміцину відчутно зросте лише після 48 годин в стані стаціонарної фази. При надлишку джерел азоту утворення ванкоміцину буде рівномірно зростати під час фази росту та досягне максимуму в стаціонарній фазі. Окрім цього, витрата фосфатів та глюкози збільшиться. Оптимальна концентрація фосфату стимулює утворення ванкоміцину та збільшення біомаси. У культурах з подвоєною концентрацією амінокислот фосфати швидше використовуються. Збільшення концентрації фосфату у 2,5 рази спричиняє негативний ефект – продукування антибіотика припиниться. Утворення ванкоміцину сповільнюється порівняно з утворенням біомаси антибіотика в культурі достатньою кількістю кисню та з обмеженим вмістом вуглецю, що відповідає типовій кінетиці виробництва вторинних метаболітів мікроорганізмами.

Критично важливою у виробництві є аерація. При культивуванні *Amycolatopsis orientalis* з недостатньою аерацією відбувається зниження вмісту розчиненого кисню і, відповідно, зниження концентрації біомаси. При

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		55

чому антибіотик в таких умовах не синтезується. Для отримання максимально можливого виходу ванкоміцину необхідно проводити дослідження для оптимізації умов культивування для певного продуцента та коригувати склад поживного середовища. Після визначення конкретних оптимальних умов процесу у лабораторії виробництво антибіотика можна масштабувати.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						56
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

3 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

3.1 Розрахунок матеріального балансу

Для розрахунку матеріального балансу виробництва антибіотика ванкоміцину нами було обрано кількість 1000 кг (1000000 флаконів). Розрахунок матеріального балансу представлений в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Матеріальний баланс стадій виробництва антибіотика ванкоміцину 1000 кг (1000000 флаконів), по 1000 мг в 1 флаконі

Найменування	Вміст осн. речовини, %	Витрачено та отримано				
		Маса, кг			Об'єм, л	Кількість, шт
		Загальна	Основної речовини	Кг/моль		
1	2	3	4	5	6	7
Витрачено на стадії ТП 8. Виробниче культивування						
Вода питна					60950,000	
Декстрин		12250,000				
Соеве борошно		412,500				
Картопляний протеїн		412,500				
Натрій хлористий		225,000				
Посівний матеріал <i>A. orientalis</i>					825,000	
Всього:		82500,000				
Отримано на стадії ТП 8						
Культуральна рідина	10 г/л				78375,000	
Втрати					4125,000	
Всього:					82500,000	
Витрачено на стадії ТП 9. Відділення біомаси фільтруванням						
Культуральна рідина					78375,000	
Всього:					78375,000	
Отримано на стадії ТП 9						
Біомаса продуцента		7825,000				
Фільтрат					68200,000	

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7
Втрати					2350,000	
Всього:		7825,000			70550,000	
Витрачено на стадії ТП 10. Виділення продукту						
Фільтрат					68200,000	
Розчин етанолу 15%	15,0				17050,000	
Всього:					85250,000	
Отримано на стадії ТП 10						
Елюат					17300,000	
Рідкі відходи					64540,000	
Втрати					3410,000	
Всього:					85250,000	
Витрачено на стадії ТП 11. Фільтрація розчину антибіотика						
Елюат					17300,000	
Всього:					17300,000	
Отримано на стадії ТП 11						
Домішки					1730,000	
Розчин ванкоміцину					14705,000	
Втрати					865,000	
Всього:					17300,000	
Витрачено на стадії ТП 12. Концентрування розчину антибіотика						
Розчин ванкоміцину					14705,000	
Всього:					14705,000	
Отримано на стадії ТП 12						
Випарена вода					9550,000	
Концентрований розчин ванкоміцину					4420,000	
Втрати					735,000	
Всього:					14705,000	
Витрачено на стадії ТП 13. Ліофільне сушіння препарату						
Концентрований розчин ванкоміцину					4420,000	
Всього:					4420,000	
Отримано на стадії ТП 13						
Випарена вода					3240,000	
Сухий порошок ванкоміцину		1050,000				
Втрати		130,000				
Всього:		1180,000			3240,000	

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.02.02.00 000 ПЗ

Арк.

58

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7
Витрачено на стадії ПМВ 14.1. Фасування готового продукту						
Сухий порошок ванкоміцину		1050,000				
Флакони						1000000
Кришки пластикові						1000000
Всього:		1050,000				1000000
Отримано на стадії ПМВ 14.1						
Закупорені флакони препаратом 3						1000000
Втрати		50				1000000
Всього:		50				1000000
Витрачено на стадії ПМВ 14.2. Пакування, маркування, відвантаження готового продукту						
Закупорені флакони препаратом 3						1000000
Етикетки						1000000
Інструкція						1000000
Коробка						1000000
Всього:						1000000
Отримано на стадії ПМВ 14.2						
Розфасована та упакована продукція						1000000
Всього:						1000000

3.2. Розрахунок і вибір технологічного обладнання

Розрахунок і вибір технологічного обладнання представлений в табл.

3.2.

Таблиця 3.2 – Розрахунок і вибір технологічного обладнання

Найменування технологічного обладнання	Індекс та номер за АС	Кількість, шт.
1	2	3
Об'ємно-вагові дозатори	Д-1, 2, 4, 5, 7, 8, 21, 22, 25, 28, 31, 35	12
Реактор-змішувач	Р-3, 6, 9, 23	4
Повітрозабірник	Зп-10, 15	2
Фільтр	Ф-11, 16	2

Продовження таблиці 3.2

1	2	3
Компресор	К-12, 17	2
Нагрівальна колонка	Нк-13	1
Фільтр	Ф-14, 20	2
Теплообмінник	То-18	1
Ресивер	Рс-19	1
Насос	Н-24	1
Реактор-змішувач	Р-26	1
Реактор-змішувач	Р-29	1
Колби Ерленмейєра	Кл-30	3
Інокулятор	І-32	1
Фільтр	Ф-33, 37	2
Фільтр	Ф-34, 38	2
Ферментер виробничий	Фв-36	1
Насос	Н-33, 41, 43, 45	4
Барабанний фільтр	Ф-40	1
Хроматографічна система	Х-42	1
Нутч-фільтр	Ф-44	1
Роторно-плівковий випарний апарат	В-46	1
Апарат розливу	Ар-47	1
Ліофільна сушарка	С-48	1
Закупорювальний апарат	За-49	1
Пакувальна машина	ПМ-50	1

Об'ємно-вагові дозатори фірми «Промвіт» призначені для дозування компонентів. Їхня потужність становить до 1,8 кВт та мають напругу 220 В, межі дозування становлять 0,1-30 кг, а їхня точність – $\pm 1,5\%$.

Фармацевтичний реактор-змішувач для розчинів із нержавіючої сталі має об'єм 1000 л та коефіцієнт заповнення 0,7. Реактор обладнаний якірною мішалкою, швидкість обертання якої становить 80 об/хв. Напруга реактора – 220 В, потужність – 6 Вт.

Повітрязабірник має металеву сітку, призначену для виділення великих частинок.

Фільтр типу ФЯР призначений для попереднього очищення повітря, а його ефективність становить 80%.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		60

Потужність компресора для стабілізації термодинамічних показників повітря становить 14 л/с, робочий тиск – 1 МПа.

Нагрівальна колонка призначена для стабілізації термодинамічних показників повітря.

Фільтр для очистки повітря від часток діаметром більше 1,5 мкм, ефективність якого становить 98%.

Теплообмінник призначений для стабілізації термодинамічних показників повітря.

Ресивер призначений для вирівнювання тиску і вологості в системі.

Осьовий насос має такі характеристики: подача становить 2500 м³/год, напір – 4,2 м. в. ст., потужність електродвигуна – 45 кВт.

Реактори-змішувачі призначені для приготування термолабільних і термостабільних компонентів середовища. Апарати мають сорочку, еліптичну кришку, днище та турбіну мішалку з нержавіючої сталі. Загальна місткість становить 200 л та 320 л.

Колби Ерленмейєра об'ємом 750 см³ призначені для вирощування посівного матеріалу.

Інокулятор із нержавіючої сталі призначений для вирощування посівного матеріалу та обладнаний турбінною мішалкою.

Індивідуальний фільтр типу ULPA призначений для затримання частинок розміром 0,5 мкм. Ефективність очистки становить 99,999%.

Фільтр призначений для очистки відпрацьованого повітря, його ефективність становить 80%.

Ферментер виробничий являє собою вертикальний апарат з сорочкою, еліптичною кришкою, днищем, турбінною мішалкою, а також має барботер та загальну місткість 20 м³ (рис. 3.1).

Відцентровий горизонтальний консольний одноступеневий насос має робоче колесо закритого типу.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		61

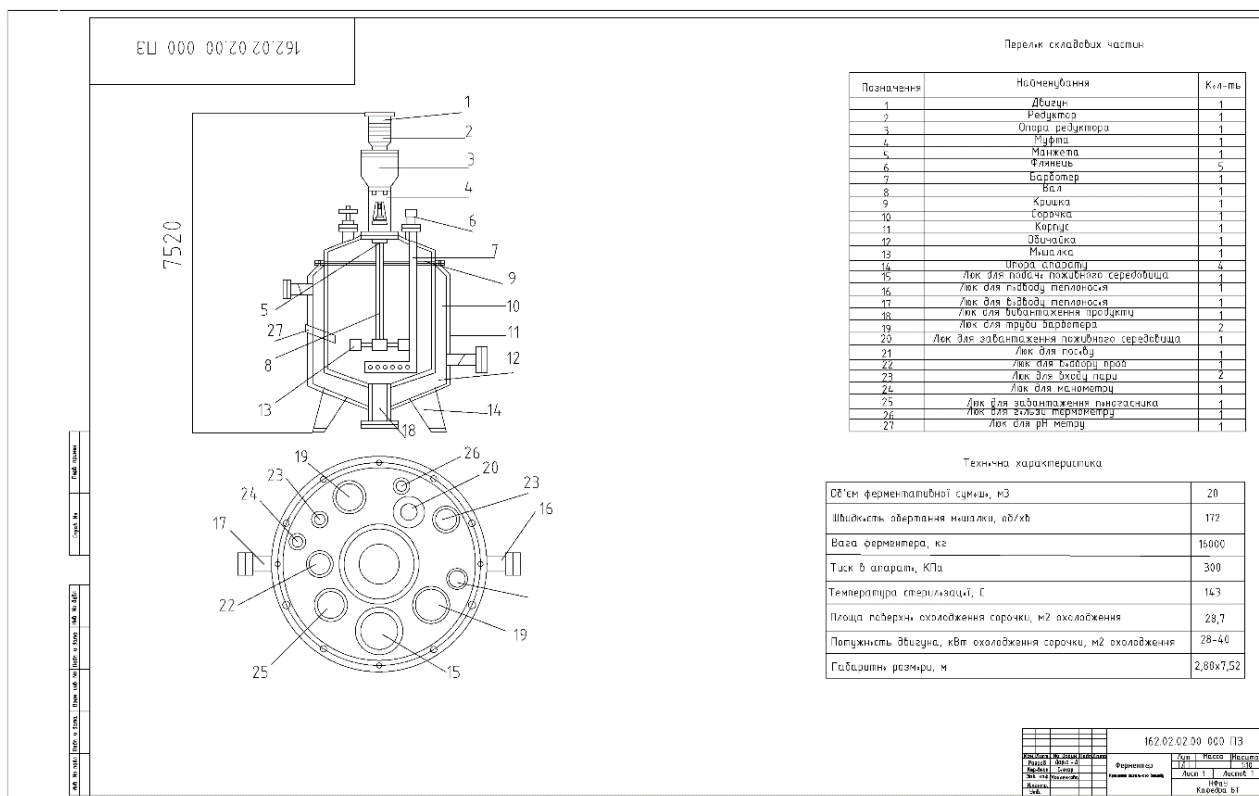


Рис. 3.1 – Загальний вигляд ферментера

Площа фільтрації барабанного фільтра становить 3 м², а діаметр самого барабана – 2600 мм.

Максимальна пропускна здатність хроматографічної системи становить 130 мПа. Максимальна температура аналізів становить 150°C, діапазон швидкості початку рухомої фази – 0,0001-10,0000 мл/хв.

Емальований нутч-фільтр відкритого типу працює під розрідженням. Площа фільтрації становить 0,8 м², місткість – 0,3 м³. Розмір пор фільтрувальної перегородки становить 8-115 мікрон.

Роторно-плівковий парний апарат виготовлений з нержавіючої сталі, поверхня його теплообміну становить 100 м².

Апарат розливу з нержавіючої сталі має об'єм наповнення 10-5000 мг. Швидкість наповнення флаконів становить 20-40 штук на хвилину.

Ємність конденсора ліофільної сушарки становить 4 л, мінімальна температура – 60°C, потужність – 2,04 кВт.

Потужність закупорювального апарату становить 50 Вт, робоча швидкість – 20 штук на хвилину. Діаметр кришки – 10-45 мм, висота – 5-20 мм, висота – 30-180 мм.

Продуктивність пакувальної машини складає до 100 упаковок на хвилину. Потужність становить 220-380 В, 50-60 Гц.

3.3. Опис технологічного процесу

В роботі представлено опис технологічного процесу виробництва антибіотика ванкоміцину. Особливості технології виробництва готового лікарського засобу полягає в тому, що воно складається з виробничого культивування, виділення, концентрування, ліофільного сушіння, допоміжних робіт, а також переробки і знешкодження промислових відходів.

Допоміжні роботи включають безпосередню підготовку виробництва препарату, підготовку виробничих приміщень, обладнання, комунікацій, підготовку миючих та дезінфікуючих розчинів й засобів, підготовку стерильного й вентиляційного повітря, а також підготовку персоналу підприємства.

Основний технологічний процес складається з кількох етапів: підготовки посівного матеріалу та поживного середовища, виробничого культивування та відділення біомаси, виділення та концентрування антибіотика, ліофільного сушіння отриманого продукту, його фасування та пакування.

Виробничі культивування є найважливішим етапом виробництва антибіотика ванкоміцину, через що особливо важливо дотримуватися всіх необхідних умов, а також правильно підібрати необхідне промислове

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		63

обладнання. Для виробничого культивування ванкоміцину необхідне таке обладнання, як ферментер з перемішуючим пристроєм для інтенсифікації газообміну в поживному середовищі, адже під час культивування використовується глибинний метод. Перемішування проводиться завдяки турбінній мішалці. Ферментер повинен містити обігрівачу сорочку для підтримання й збереження оптимальної температури культивування, барботер для подачі повітря, а також датчики pH і pO_2 .

Оптимальної температури культивування продуцента *Amycolatopsis orientalis* є 34°C , адже продуцент є мезофілом, який найбільш оптимально росте і продукує ванкоцин з найбільшим виходом. Рівень pH дорівнює 7,3-7,4, адже саме це значення є найбільш оптимальною умовою культивування цього продуцента.

Тривалість культивування становить 120 годин і найбільш повно забезпечує отримання необхідної концентрація антибіотика ванкоміцину, адже за цей час за даної технології антибіотик накопичується в кінці культивування в необхідній кількості [30].

Для того, щоб точно визначити час завершення процесу культивування ванкоміцину з ферментера відбираються проби культуральної рідини, після чого проводиться аналіз концентрація антибіотика, визначається концентрація біомаси та чистота культури. Водночас визначається вміст джерел азоту і вуглецю в отриманих пробах для більш точного опису процесу.

Висока якість цільового продукту забезпечується завдяки етапам виділення та концентрування. Згідно з даними монографії ДФУ «Ванкоміцин для інфузій», субстанція повинна містити не менше 90% і не більше 115% ванкоміцину від номінального вмісту. Така технологія виробництва антибіотика ванкоміцину дозволяє отримати продукти з необхідною концентрацією. Все це підтверджує доцільність застосованих методів.

Технологія виробництва антибіотичного препарату Ванкоміцину включає такі стадії: підготовка поживного середовища, вирощування посівного

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						64
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

матеріалу *Amycolaptosis orientalis* КССМ-10836Р, виробниче культивування, виділення та концентрування антибіотика.

Стадія 1. ДР 1. Санітарна підготовка виробництва.

ДР 1.1. Підготовка персоналу.

ДР 1.1.1. Навчання персоналу.

Перед початком роботи всі працівники повинні пройти інструктаж з техніки безпеки та періодично проходити курси підвищення кваліфікації. Медичний огляд проходять щорічно.

ДР 1.1.2. Санітарна підготовка персоналу.

Під час роботи працівники носять спеціальний захисний одяг. Руки перед виконанням роботи обробляються дезінфікуючим засобом АХД 2000. Перевірка чистоти рук перевіряється мікробіологічним методом періодично 1 раз на тиждень. Спеціальний одяг персоналу стерилізують двічі на місяць.

ДР 1.2. Підготовка миючих розчинів та дезінфікуючих засобів.

ДР 1.2.1. Приготування миючих розчинів

Розчин миючого засобу, який призначений для обробки виробничих приміщень та мийки обладнання готують методом розчинення порошку «Сульфонол» у питній воді за температурою 40-50°C у реакторі-змішувачі. Концентрація отриманого розчину – 30%. Термін придатності миючого засобу – 5-6 днів.

ДР 1.2.2. Приготування розчину перекису водню 6%

Розчин перекису водню, який призначений для обробки виробничих приміщень та мийки обладнання готують методом змішування 30% розчину перекису водню з питною водою. Концентрація отриманого розчину перекису водню – 6%.

ДР 1.2.3. Приготування 70% розчину етилового спирту.

70% розчин етилового спирту який призначений для обробки виробничих приміщень та мийки обладнання готують методом змішування 96% етилового

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						65
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

спирту з питною водою. Концентрація отриманого розчину етилового спирту – 70%.

ДР 1.3. Підготовка виробничих приміщень

Щозміни здійснюється щоденне прибирання всіх виробничих приміщень. Перед початком роботи всі робочі поверхні та обладнання миють та дезінфікують засобами від ДР 1.2.1, 1.2.2 та 1.2.3 (30% р-н миючого засобу, 6% р-н перекису водню, 70% р-н етилового спирту). Відпрацьовані розчини до ЗВ15.

Раз у 5-6 днів здійснюється генеральне прибирання. Також можливе виконання генерального прибирання на вимогу бактеріолога. Всі робочі поверхні та обладнання миють та дезінфікують засобами від ДР 1.2.1, 1.2.2 та 1.2.3 (30% р-н миючого засобу, 6% р-н перекису водню, 70% р-н етилового спирту). Відпрацьовані розчини до ЗВ15.

Стадія 2. ДР 2. Підготовка обладнання і комунікацій

ДР 2.1 Мийка обладнання та комунікацій

Обладнання та комунікації миють розчином миючого засобу з температурою 40°C від ДР 1.2.1. Після миття здійснюється ополіскування обладнання та комунікацій питною водою.

ДР 2.2. Перевірка на герметичність

Герметичність перевіряють спочатку оглядаючи складові частини апаратів (візуально). Потім в герметично закриті апарати подають надлишковий тиск 0,15-0,2 Мпа, процес триває 30 хвилин. Контроль здійснюється за допомогою манометра, покази якого мають бути сталими.

ДР 2.3. Дезінфекція обладнання і комунікацій.

Дезінфекцію обладнання і комунікацій виконують 6% перекисом водню від ДР 1.2.2. протягом 1,5-2 год, за температури 40°C. Після дезінфекції здійснюється ополіскування обладнання та комунікацій питною водою.

ДР 2.4. Стерилізація обладнання і комунікацій.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						66
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Стерилізацію обладнання і комунікацій виконують обробкою насиченою водяною парою, що має температуру 135–145°C. Процес триває 2 год при тиску 0,2 МПа.

Стадія 3. ДР 3. Підготовка повітря.

ДР 3.1. Підготовка вентиляційного повітря.

ДР 3.1.1. Забір повітря з атмосфери.

Забір повітря з атмосфери для подальшого очищення відбувається повітрозабірником на висоті 15-20 метрів.

ДР 3.1.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок.

Попередня очистка атмосферного повітря від механічних домішок відбувається за допомогою фільтрів типу ФЯР (коміркові з вінілопластиковою сіткою). З їхньою допомогою повітря очищується від механічних домішок розміром більше 5 мкм. Ефективність очистки таких фільтрів 80%, Таз можливістю затримувати 92-99% домішок.

ДР 3.1.3. Стабілізація термодинамічних показників

Термодинамічні показники (температура, тиск вологість) повітря стабілізується за допомогою компресора. Після чого здійснюється зниження температури повітря до 20–30°C за допомогою теплообмінника. Для вирівнювання тиску та вологості в системі задіюють ресирвер перед фільтрами грубої очистки.

ДР 3.2. Підготовка стерильного повітря.

ДР 3.2.1. Забір повітря.

Забір повітря з атмосфери для подальшого очищення відбувається повітрозабірником на висоті 20-30 м.

ДР 3.2.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок.

Попередня очистка атмосферного повітря від механічних домішок відбувається за допомогою фільтрів типу ФЯР (коміркові з вінілопластиковою сіткою). З їхньою допомогою повітря очищується від механічних домішок

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						67
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

розміром більше 5 мкм. Ефективність очистки таких фільтрів 80%, Таз можливістю затримувати 92–99% домішок.

ДР 3.2.3. Стабілізація термодинамічних показників

Термодинамічні показники (температура, тиск вологість) повітря стабілізується за допомогою компресора. Після чого здійснюється зниження температури повітря до 20–30°C за допомогою теплообмінника. Для вирівнювання тиску та вологості в системі задіюють ресирвер перед фільтрами грубої очистки.

ДР 3.2.4. Очищення повітря на головному фільтрі.

В якості головного фільтра для очищення повітря використовують фільтри НЕРА (грубої очистки), що мають діаметром пор 1,5 мкм. Даний фільтр здатний затримувати механічні частки та мікроорганізми після фільтрів попередньої очистки. Ефективність очистки – 95%.

ДР 3.2.5. Очищення повітря на індивідуальному фільтрі.

В якості індивідуального фільтра для очищення повітря використовують фільтр типу ULPA (тонкої очистки). Даний фільтр здатний затримувати механічні частки розміром 0,5 мкм. Продуктивність – 60 м³/год. Ефективність очистки – 99,999%.

Стадія 4. ДР 4. Підготовка розчину NaOH для регулювання рН.

10% розчину NaOH готують методом змішування гідроксиду натрію з питною водою, процес триває 5-10 хв. Стерилізація розчину здійснюється протягом 30 хв при температурі 131°C.

Стадія 5. ДР 5. Підготовка тари (скляні флакони та ковпачки).

ДР 5.1. Мийка та ополіскування тари.

Скляні флакони та ковпачки миють розчином миючого засобу з температурою 40°C від ДР 1.2.1. Після миття здійснюється ополіскування флаконів та ковпачків питною водою.

ДР 5.2. Сушка тари.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						68
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Сушка скляних флаконів та ковпачків здійснюється в сушильній шафі. Процес триває протягом 1 години за температури 100°C.

Стадія 6. ДР 6. Підготовка поживного середовища.

ДР 6.1. Приготування поживного середовища для отримання посівного матеріалу.

На вагах зважують глюкозу (1,7%), дріжджовий екстракт (0,3%), солодовий екстракт (0,3%) та бактопептону (1,1%). Наважку поміщають у колбу Ерленмеєра, додають питну воду, перемішують. Стерилізація поживного середовища в колбі здійснюється в автоклаві при температурі 112°C, процес триває 30 хв.

ДР 6.2. Підготовка поживного середовища для культивування.

ДР 6.2.1. Приготування термостабільних компонентів поживного середовища.

Попередньо зважені термостабільні компоненти: декстрин (5%) та NaCl (0,3%) та питна вода завантажуються у реактор-змішувач. Після чого здійснюється перемішування з частотою обертів мішалки 30-40 об/хв. Процес триває протягом 30 хв. Стерилізація термостабільних компонентів здійснюється протягом 15 хв за температури 131°C та тиску 0,3 МПа.

ДР 6.2.2. Приготування термолабільних компонентів поживного середовища.

Попередньо зважені термолабільні компоненти: соєве борошно (0,5%) та картопляний протеїн (0,5%) завантажують у реактор-змішувач, після чого додають необхідну кількість питної води, температури 50-60°C. Стерилізація термолабільних компонентів здійснюється протягом 20 хв при температурі 112°C, тиску 0,2 МПа.

ДР 6.2.3. Змішування компонентів поживного середовища.

Термолабільні компоненти поживного середовища від ДР 6.2.2 завантажуються у реактор-змішувач з термостабільними компонентами від ДР

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						69
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

6.2.1 за допомогою дозатора під час постійного перемішування з частотою обертів мішалки 30-40 об/хв. Процес триває протягом 15 хв.

Стадія 7. ТП 7. Підготовка посівного матеріалу *Amycolaptosis orientalis* КССМ-10836Р.

ТП 7.1. Відновлення музейної культури.

Музейну культуру *Amycolaptosis orientalis* КССМ-10836Р висівають на чашки Петрі з МПА. Чашки з музейною культурою витримують за температури 34°C протягом 48 год. По закінченню часу перевіряють мікробіологічну чистоту методом мікроскопії, при цьому візуально оцінюють культуральні та морфологічні ознаки продуцента.

ТП 7.2 Вирощування культури в колбах.

Після відновлення музейну культуру пересівають на рідке поживне середовище у колби Ерленмейера об'ємом 750 см³ від ДР 6.1. Вирощування посівного матеріалу відбувається в колбах на качалках. Параметри культивування: температура 34°C, тривалість 60 год, швидкість обертів – 120 об/хв.

ТП 7.3. Вирощування посівного матеріалу у інокуляторі.

В інокулятор з поживним середовищем від ДР 6.2.3. вносять посівний матеріал з колб від ТП 7.2. Вирощування посівного матеріалу здійснюють протягом 60 год при температурі 34±1°C. Протягом всього часу вирощування здійснюється подача кисню за допомогою барботера. Періодично перевіряють мікробіологічну чистоту методом мікроскопії, при цьому візуально оцінюють культуральні та морфологічні ознаки продуцента.

Стадія 8. ТП 8. Виробниче культивування.

У ферментер вносять стерильне поживне середовище від ДР 6.2.3, після чого вносять посівний матеріал від ТП 7.3. Посівний матеріал вносять у ферментер в кількості 10% від об'єму середовища. Культивування здійснюється глибинним методом. Коефіцієнт заповнення ферментера 0,6, частота обертання мішалки 140-200 об/хв, температура 34±1°C, надлишковий

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						70
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

тиск (0,2-0,3) МПа, тривалість культивування 120 год. Під час процесу культивування подають повітря через барботер для підтримання концентрації розчиненого кисню (pO_2) на рівні 60% від насичення повітрям. рН підтримується на рівні 7,4 за допомогою розчину NaOH від ДР 4.

Культуральну рідину обов'язково періодично контролюють на мікробіологічну чистоту. Сигналом для закінчення процесу культивування є досягнення максимальної концентрації антибіотику ванкоміцину у 10-12 г/л.

Стадія 9. ТП 9. Відділення біомаси фільтруванням.

Культуральна рідина від ТП 8 надходить до барабанного вакуум-фільтра. Фільтрувальний матеріал – бельтинг. Процес фільтрування здійснюється протягом 60 хв, та робочого тиску – 0,05 атм. Осад, що утворився направляється до ЗВ 15.

Стадія 10. ТП 10. Виділення продукту абсорбційним методом.

ТП 10.1. Приготування розчину елюенту. Елюент готують методом розведення водою розчину етанолу концентрацією 99,95% до концентрації 15% у реакторі-змішувачі.

ТП 10.2. Сорбція антибіотику на іонообмінній смолі.

Фільтрат від ТП 9, подається на хроматографічну колонку заповнену смолою Diaion HP20 для сорбції ванкоміцину.

ТП 10.3. Елюювання антибіотика.

Після завершення сорбції ванкоміцину абсорбційну смолу промивають водою, а ванкоміцин елюють з абсорбційної смоли використанням елюенту – 15% розчину етанолу від 10.1. Його пропускають крізь смолу зі швидкістю 40л/год.

Стадія 11. ТП 11. Фільтрація розчину антибіотика.

Фільтрація розчину антибіотика від домішок, які елюються разом з молекулами антибіотика, здійснюється за допомогою ультрафільтраційної установки. В ультрафільтраційних установках використовується

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						71
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

напівпроникна мембрана із внутрішнім діаметром волокон 20-100 мкм і товщиною стінки 10-50 мкм.

ТП 12. Концентрування розчину антибіотика.

Розчин антибіотика від ТП 11 концентрують у плівковому випарному апараті. Процес відбувається при температурі 40-55°C та тиску 0,03 мПа. Ступінь концентрування антибіотика 2 рази.

Стадія 14. ТП 13. Ліофільне сушіння препарату.

ТП 13.1 Розлив і заморожування препарату.

Препарат розливають у скляні флакони, після чого здійснюється процес заморожування продукту поступово в камерах при температурі -40 °C за рахунок подачі холодоносія в порожнину полиць.

ТП 13.2. Ліофільне сушіння.

Сушіння продукту відбувається за допомогою ліофільних сушарок типу ТГ-50. Рідина після заморожування під дією температури близько -60°C сублімується і вивітрюється. Ліофільне сушіння триває 24 год, при цьому температуру поступово підвищують на 3°C/год до температури 34-36°C.

ПМВ 14. Фасування та пакування готового продукту.

Стадія 15. ПМВ 14.1. Закупорювання флаконів.

Скляні флакони з 1000 мг препарату закупорюються підготованими гумовими пробками та алюмінієвими ковпачками з дотримання правил асептики.

ПМВ 14.2. Пакування, маркування, відвантаження готового продукту.

Маркування здійснюється шляхом наклеювання індивідуальних етикеток з усією необхідною інформацією на кожен флакон. Після чого кожен флакон пакують у картонну коробку, в яку вкладається інструкція по застосуванню препарату, на коробках вказується НТД, якому відповідає препарат. Коробки з готовою продукцією відправляються на склад для подальшого зберігання та реалізації.

ЗВ 15. Знешкодження відходів та промислових викидів.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						72
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Відпрацьовані розчини від ДР 1.3 та ДР 2, відпрацьоване поживне середовище та біомасу продуцента від ТП 8 нейтралізують та зливають у каналізацію; відпрацьоване повітря від ТП 8 очищують; тверді відходи утилізують.

ПВ 16. Переробка відходів.

Повітряні фільтри від ДР 3.1.2, 3.1.4 та ДР 3.2.2, 3.2.4, 3.2.5 можуть використовуватися повторно після відновлення, методом вимочування у гарячій воді та обробкою дезінфікуючими засобами.

3.4. Схеми виробництва

Виробництво ванкоміцину містить стандартні стадії роботи для методу періодичного культивування за принципом масштабування – спочатку відбувається відновлення виробничої культури, потім вирощування у поживному середовищі, потім в інокуляторі і ферментерах зі збільшенням об'єму свіжого живильного середовища.

Схеми біологічного та технологічного процесу виробництва антибіотика ванкоміцину виглядають таким чином (рис. 3.2 і 3.3).

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						73
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

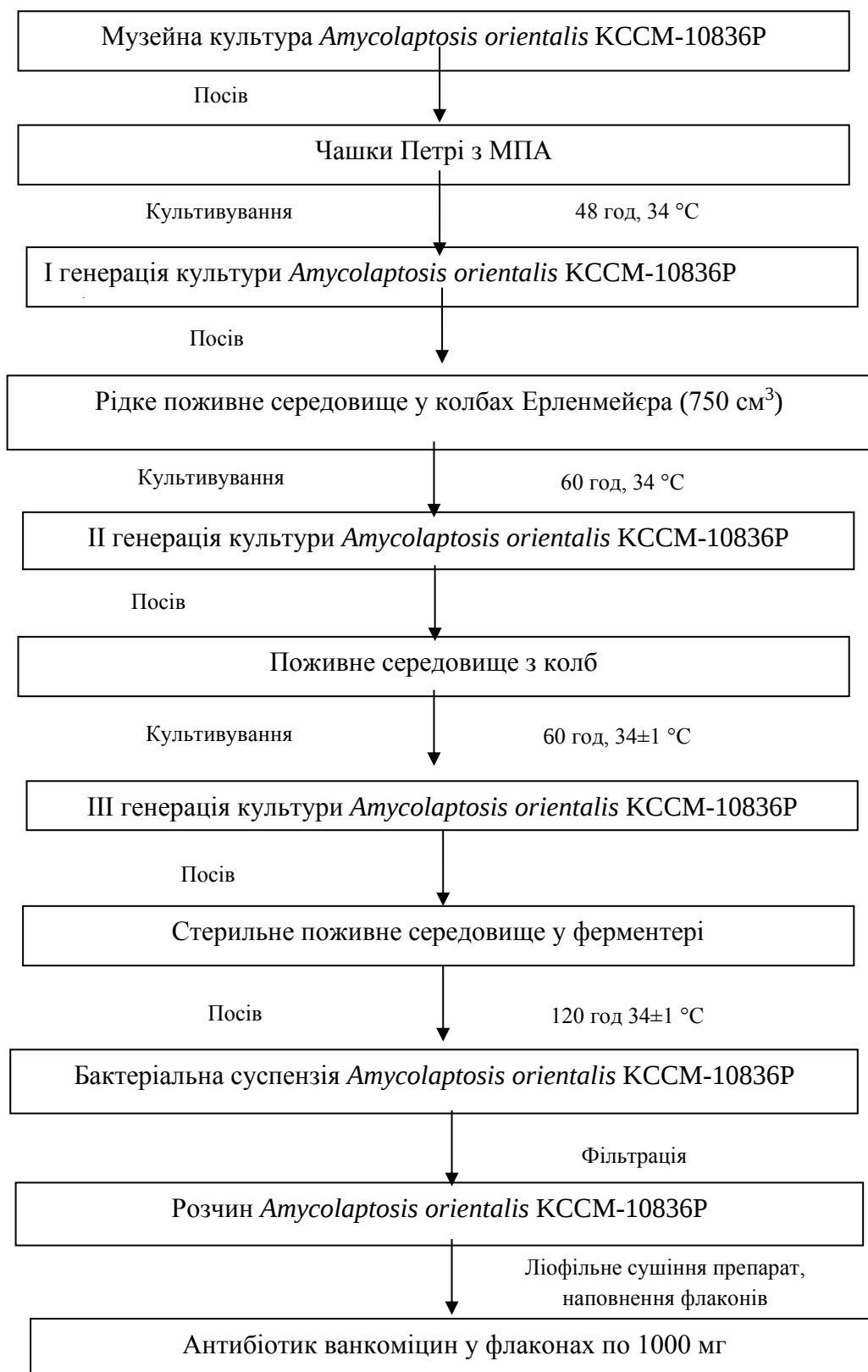


Рис. 3.2 – Біологічна схема виробництва антибіотика ванкоміцину

Вихідна сировина,
проміжна продукція та
матеріали

Виготовлення антибіотика ванкоміцину у флаконах

Контроль у
процесі
виробництва

Спеціальний захисний одяг, АХД 200, розчин перекису водню 6%, 70% розчин етилового спирту, миючі засоби

Стадія 1 Санітарна підготовка виробництва

Підготовка персоналу, вхідний контроль

Миючий засіб, питна вода, 6% перекис водню, насичена водяна пара

Стадія 2 Підготовка обладнання і комунікацій Манометр

Мийка, перевірка на герметичність, дезінфекція, стерилізація обладнання та комунікацій

Повітря

Стадія 3 Підготовка повітря Повітрозабірник, фільтри типу ФЯР, компресор, теплообмінник, ресервер, фільтри типу HEPA, ULPA

Очищення повітря

Розчин NaOH

Стадія 4 Підготовка розчину NaOH для регулювання pH Змішувач, стерилізатор

pH

Розчин NaOH

Стадія 5 Підготовка тари Сушильна шафа

Мийка, ополіскування, сушка тари

Поживне середовище

Стадія 6 Підготовка поживного середовища Ваги, колба Ерленмєсера, автоклав, реактор-змішувач, стерилізатор

Приготування поживного середовища

Streptomyces orientalis KCCM-10836P

Стадія 7 Підготовка посівного матеріалу *Amycolaptosis orientalis* KCCM-10836P Колби Ерленмєсера, автоклав, інокулятор

Приготування посівного матеріалу

Поживне середовище, *Streptomyces orientalis* KCCM-10836P

Стадія 8 Виробниче культивування Ферментер

Культивування

Виробничий штам ванкоміцину

Стадія 9 Відділення біомаси фільтруванням Вакуум-фільтр

Чистота культури мікроскопічно та бактеріологічно, температура інкубування

Розчин елюенту, іонообмінна смола

Стадія 10 Виділення продукту абсорбційним методом Реактор-змішувач, хроматографічна система

Чистота культури, відсутність сторонньої мікрофлори, температура інкубування

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата

162.02.02.00 000 ПЗ

Арк.

75

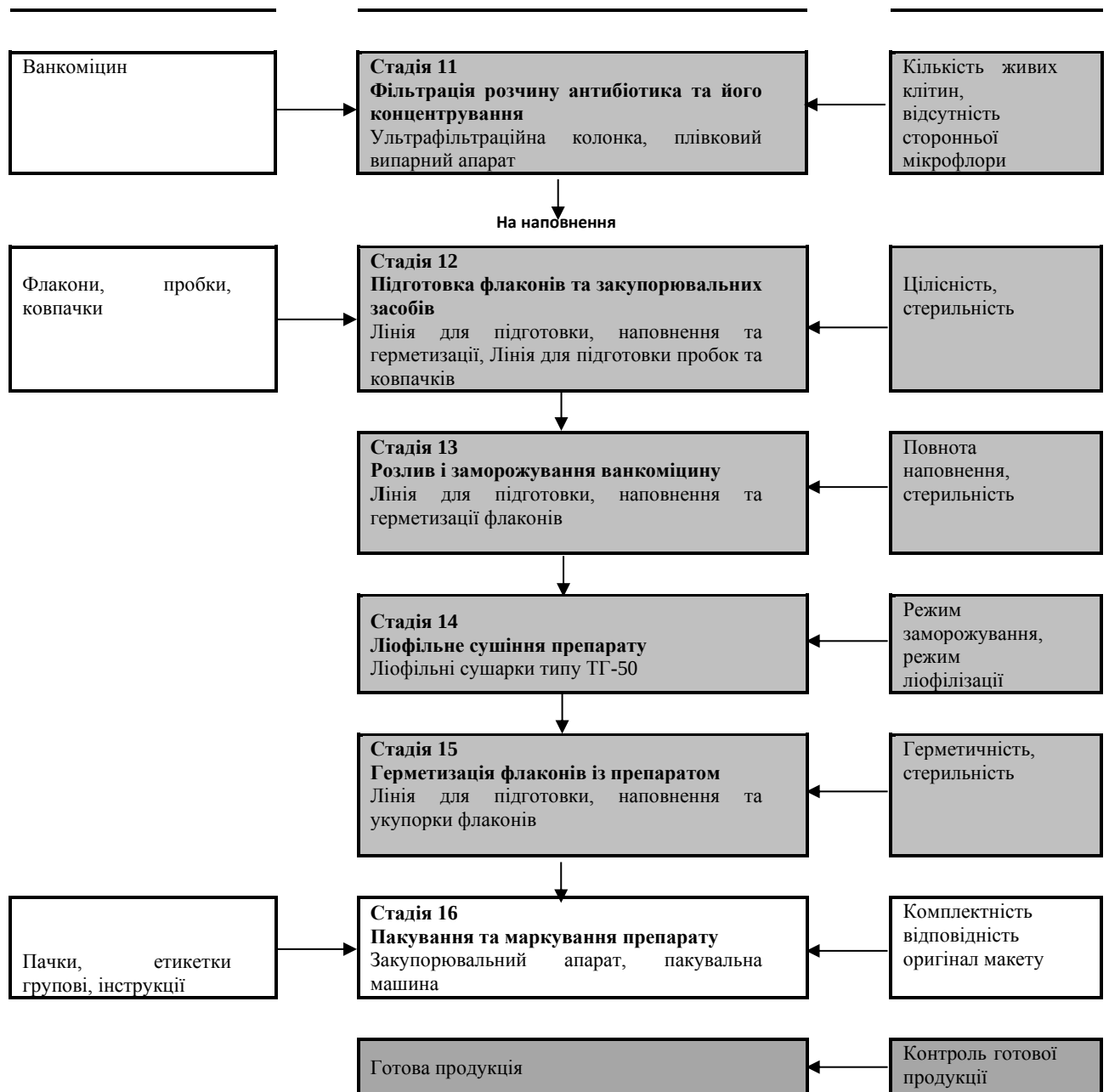


Рис. 3.3 – Технологічна схема виробництва антибіотика ванкоміцину.

3.5. Контроль виробництва

В таблиці 3.5 наведено перелік контрольних точок виробництва, завдяки яким забезпечується проведення технологічного процесу виробництва антибіотика ванкоміцину.

Таблиця 3.5 – Контрольні точки виробництва

Контрольні точки	Об'єкти контролю та показники	Методи контролю	Періодичність контролю	Нормативна характеристика
1	2	3	4	5
ДР 1.1. Підготовка персоналу Кмб 1.1.1	Мікробна контамінація, руки персоналу	Мікробіологічний	1 раз на тиждень	Не більше 5 КУО у змивах з рук
ДР 1.2.1. Приготування миючих розчинів Кт 1.2.1.1	Сульфонол	Мірний посуд, в т. ч. ваги	Під час кожної операції	30%
ДР 1.2.2. Приготування розчину перекису водню 6% Кт 1.2.2.1	Перекис водню	Мірний посуд, в т. ч. ваги, визначення кількісної концентрації	Під час кожної операції	6%
ДР 1.2.3. Приготування 70% розчину етилового спирту Кт 1.2.3.1	Етанол	Мірний посуд, в т. ч. ваги, визначення кількісної концентрації	Під час кожної операції	70%
ДР 1.3.1. Щоденне прибирання Кмб 1.3.1.1	Кількість мікроорганізмів	Змиви з поверхонь	1 раз на тиждень	Клас В: КУО<10, Клас С: КУО<100, Клас D: КУО<200
ДР 1.3.2. Генеральне прибирання Кмб 1.3.2.1	Кількість мікроорганізмів	Змиви з поверхонь	1 раз на місяць	Клас В: КУО<10, Клас С: КУО<100, Клас D: КУО<200

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
ДР 2.3. Дезінфекція обладнання і комунікацій Кт 2.3.1 Км 2.3.2	Стерильність, температура, тривалість	Мікробіологічний, регулятор температур, годинник	Під час кожної операції	КУО<2, 40°C, 1,5-2 год
ДР 2.4. Стерилізація обладнання і комунікацій Кт 2.4.1 Км 2.4.2	Стерильність, температура, тиск, тривалість	Мікробіологічний, регулятор температур, манометр, годинник	Під час кожної операції	Стерильні, 135-145°C, 0,2 МПа, 2 год
ДР 3.1.1. Забір повітря з атмосфери Кт 3.1.1.1	Повітря атмосфери, кількість частинок	Пропускна здатність	Під час кожної операції	2000/м ³
ДР 3.1.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок Кт 3.1.2.1	Ефективність очистки	Імпактор до та після фільтру	Під час кожної операції	80%
ДР 3.1.3. Стабілізація термодинамічних показників Кт 3.1.3.1	Температура, вологість	Регулятор температур, психрометр	Під час кожної операції	20°C, 40%
ДР 3.2.1. Забір повітря Кт 3.2.1.1	Повітря атмосфери, кількість частинок	Пропускна здатність	Під час кожної операції	2000/м ³
ДР 3.2.2. Попередня очистка повітря від механічних домішок Кт 3.2.2.1	Ефективність очистки	Імпактор до та після фільтру	Під час кожної операції	80%
ДР 3.2.3. Стабілізація термодинамічних показників Кт 3.2.3.1	Температура, тиск	Термометр, манометр	Під час кожної операції	20°C, 0,2 МПа

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
ДР 3.2.4. Очищення повітря на головному фільтрі Кт 3.2.4.1 Км 3.2.4.2	Повітря, стерильність, механічні частки, ефективність	Мікробіологічний, седиментація	Під час кожної операції	<2 КУО/м ³ , максимальна кількість часток/м ³ – 200, 95%
ДР 3.2.5. Очищення повітря на індивідуаль- ному фільтрі Кт 3.2.5.1 Км 3.2.5.2	Повітря, стерильність, механічні частки, ефективність	Мікробіологічний, седиментація	Під час кожної операції	КУО відсутні, максимальна кількість часток/м ³ – 10, 99,999%
ДР 4. Підготовка розчину NaOH для регулювання рН. Кт 4.1 Кмб 4.2	Гідроксид натрію, стерильність, температура, час	Ваговий, мікробіологічний, регулятор температур, годинник	Під час кожної операції	Стерильний, 131°C, 40 хв
ДР 5.1. Мийка та ополіскування тари Кт 5.1.1	Температура	Регулятор температур	Під час кожної операції	40°C
ДР 5.2. Сушка тари Кт 5.2.1	Температура, час	Регулятор температур, годинник	Під час кожної операції	100°C, 1 год
ДР 6.1. Приготування поживного середовища для отримання посівного матеріалу Кт 6.1.1 Км 6.1.2	Стерильність, температура, час	Мікробіологічний, регулятор температур, годинник	Під час кожної операції	Стерильний, 112°C, 30 хв
ДР 6.2.1. При- готування тер- мостабільних компонентів поживного середовища Кт 6.2.1.1 Км 6.2.1.2	Стерильність, температура, тиск, час	Мікробіологічний, регулятор температур, манометр, годинник	Під час кожної операції	Стерильний, 131°C, 0,3 МПа, 15 хв

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
ДР 6.2.2. Приготування термолабіль- них компонентів поживного середовища Кт 6.2.2.1 Км 6.2.2.2	Температура, тиск, час	Регулятор температур, манометр, годинник	Під час кожної операції	112°C, 0,2 МПа, 20 хв
ДР 6.2.3. Змішування компонентів поживного середовища Кт 6.2.3.1 Км 6.2.3.2	Стерильність, час, частота обертів мішалки	Мікробіологічний, годинник	Під час кожної операції	Стерильний, 15 хв, 30-40 об/хв
ТП 7.1. Відновлення музейної культури Кт 7.1.1 Км 7.1.2	Штам S. orientalis KCCM-10836P	Мікробіологічний	Під час кожної операції	Відповідніс- ть розміру, форми клітин; країв, кольору та прозорості колонії; відсутність сторонньої мікрофлори
ТП 7.2 Вирощування культури в колбах Кт 7.2.1 Км 7.2.2	Мікробіологічн а чистота, температура, час, швидкість обертів	Мікробіологічний, термометр, годинник	Під час кожної операції	Відсутність сторонньої мікрофлори, 34°C, 60 год, 120 об/хв
ТП 7.3. Вирощування посівного матеріалу у інокуляторі Кт 7.3.1 Км 7.3.2	Мікробіологічн а чистота, температура, час, аерація, рН	Мікробіологічний, термометр, годинник, аерометр, рН-метр	Під час кожної операції	Відсутність сторонньої мікрофлори, 34°C, 60 год, 1м ³ /(м ³ хв), рН – 7,4

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
ТП 8. Виробниче Культивуван- ня Кт 8.1 Км 8.2	Мікробіологічн а чистота, температура, тиск, час, аерація, перемішування, рН, швидкість обертів, концентрація ванкоміцину після культивування	Мікробіологічний, термометр, манометр, годинник, аерометр, рН-метр, фотокалориметрія	Під час кожної операції	Відсутність сторонньої мікрофлори, 34°C, 120 год, 0,6м³/(м³хв), р = 0,2-0,3, рН -7,4, 140-200 об/хв, 10-12 г/л
ТП 9. Відділення Біомаси філь- труванням Кт 9.1	Тиск, час	Манометр, годинник	Під час кожної операції	0,05 атм, 60 хв
ТП 10.1 Приготування розчину елюенту Кт 10.1.1 Кх 10.1.2	Концентрація	Хімічний, аналітичний	Під час кожної операції	15%
ТП 11. Філь- трація розчину ванкоміцину Кт 11.1	Тиск	Манометр	Під час кожної операції	0,6 МПа
ТП 12. Концентруван ня розчину ванкоміцину Кт 12.1	Температура, тиск	Термометр, манометр	Під час кожної операції	40-55°C, 0,03 мПа
ТП 13.1. Заморожуванн я препарату Кт 13.1.1	Температура	Термометр	Під час кожної операції	-40°C
ТП 13.2. Ліофільне сушіння Кт 13.2.1	Температура, час	Термометр, годинник	Під час кожної операції	Підвищення на 3°C/год, 24 год
ПМВ 14. Фасування та пакування, готового продукту Кт 14.1	Вага, маркування	Ваговий, візуальний	Під час кожної операції	1000 мг, маркування флакону та картонної коробки

Продовження таблиці 3.5

1	2	3	4	5
ЗВ 15. Знешкодженн я відходів та промислових викидів Кт 15.1 Км 15.2 Кт 15.3	Концентрація відходів	Мікробіологічний, хімічний, кількісний	Під час кожної операції	Відповідно до санітарних норм
ПВ 16. Переробка відходів Кт 16.1 Км 16.2 Кт 16.3	Наявність мікробіологічн их, хімічних та механічних забруднень	Мікробіологічний, хімічний, кількісний	Під час кожної операції	Відповідно до НТД

Стандартизація являє собою процес встановлення і застосування єдиних правил для впорядкування діяльності в певній галузі, зокрема виробництва антибіотиків. До основних нормативно-технічних документів, в яких описано вимоги щодо стандартизації продукції фармацевтичної промисловості належать:

- ДСТУ ISO 9003-95 [6];
- ДСТУ 1.7-2001 [4];
- ДСТУ 1.5-2003 [3];
- СТ МОЗУ 42-1.0:2005 [8].

Якість продукту, у тому числі антибіотиків, є найважливішим значенням при виробництві фармацевтичних продуктів, через що особливо важливим є дотримання вимог належної виробничої практики (GMP) при стандартизації продукції. Під час виробництва ванкоміцину необхідно використовувати лише валідовані методики.

Протягом усього процесу виробництва ванкоміцину відбувається поетапний контроль. Після кожного етапу необхідне проведення перевірки на відповідність нормам та вимогам документації. У випадку невідповідності на одному з етапів здійснюється вибракування всієї серії продукту.

Первинна тара повинна бути герметичною та запобігати контамінації ванкоміцину, бути хімічно та фізично індиферентною відносно антибіотика, зберігати його чистоту, якість та терапевтичну активність. Вторинне пакування має відповідати вимогам ДСТУ ISO 15378:2019 «Матеріали первинні пакувальні на лікарські засоби. Окремі вимоги щодо застосування» [5].

3.6. Екологічні аспекти виробництва

Будівлі, призначені для виробництва, повинні відповідати вимогам Державних будівельних норм та санітарних норм та правил, передбачених чинним законодавством України.

Фармацевтичне підприємство належить до промислових будівель і включає такі технологічні зони, як зона основного виробництва, допоміжні зони, зони контролю якості та складські зони.

До основних зон фармацевтичного виробництва належить безпосередньо сама виробнича зона та зона технічної підтримки.

Складська зона проєктується, враховуючи специфіку виробництва та поділяється на відсіки приймання, зберігання та відвантаження, що мають різні умови чистоти, температури, вологості та освітлення. Складська зона має достатню площу і призначається для зберігання сировини та всіх необхідних матеріалів, готової продукції.

Теплопостачання забезпечується котельною, що знаходиться на території фармацевтичного підприємства. Секційні радіатори слугують опалювальними пристроями, а водяна пара, що має температуру 120°C, використовується як теплоносій. Система теплопостачання повинна відповідати вимогам БН В.2.5-67:2013 «Опалення, вентиляція та кондиціонування» [1].

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						84
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

Вимоги щодо системи вентиляції представлені у ДБН В.2.5-67:2013. У всіх зонах підприємства наявна система вентиляції, що включає припливно-витяжний тип, що передбачає видалення з приміщення забрудненого повітря та заміна його чистим повітрям. У приміщеннях з постійним робочому місці функціонує система кондиціонування.

На фармацевтичному підприємстві наявна система виробничого та господарсько-побутового водопостачання, яка здійснюється за рахунок міського водоканалу. Підготовка очищеної води є складовою системи виробничого водопостачання, що відбувається завдяки системі фільтрів тонкої та механічної очистки, ультрафільтрації та зворотного осмосу. Раз на місяць здійснюється контроль якості очищеної води.

Існують процеси, які не потребують використання очищеної води, зокрема до них належить господарсько-побутові потреби. В такому випадку використовується питна вода. У теплообмінниках та оболонці ферментеру можна повторно використовувати технічну воду після закінчення певного процесу.

Господарсько-побутові стічні води проходять очистку після потрапляння в загальноміську мережу каналізації. Промислові стічні води також надходять в міську каналізацію, але після первинної чистки та нейтралізації шкідливих речовин. Виробничі стічні води знезаражуються та розводяться в 15 разів перед надходженням в міську каналізацію.

Фармацевтичне підприємство забезпечується електроенергією від центральної підстанції, що розподіляє електроенергію у всіх приміщеннях за допомогою цехового трансформатора із напругою 380 В або 660 В. У випадку відсутності подачі електроенергії та несправності центральної підстанції виробництво забезпечується на 100% генераторами.

Система освітлення всіх приміщень повинна відповідати вимогам ДБН В.2.5-28-2006 «Природне і штучне освітлення» [2]. Для нормальної трудової діяльності персоналу підприємства наявне робоче освітлення. Всі робочі

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						85
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

приміщення забезпечені загальним освітленням, що являють собою розміщені світильники у верхній зоні приміщення, а також місцевим освітленням, що являє собою світильники, спрямовані на робочі місця. Від автономного джерела живиться аварійне освітлення, що повинне забезпечувати освітленість та не менше 1 лк на території фармацевтичного підприємства та не менше 2 лк на робочих місцях [7].

При розгляді виробництва антибіотика ванкоміцину з точки зору екології, зазначимо, що технологія з використанням мікробного синтезу має ряд певних переваг у порівнянні з технологією із застосуванням хімічного синтезу, таких як:

1. Сучасні біотехнологічні процеси дозволяють зменшити використання агресивних хімічних реактивів.
2. Біотехнологічні процеси найчастіше є більш енергоефективними і зменшують використання невідновлюваних ресурсів.
3. Відходи, що виникають за ходом технологічного процесу виробництва ванкоміцину, можуть бути знову використані або перероблені у інші корисні вторинні продукти.

При виробництві ванкоміцину утворюються стандартні відходи, включаючи залишки продуцента, залишки миючих засобів, відпрацьовані повітря та вода тощо.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						86
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ВИСНОВОК

1. Обґрунтовано вибір штам продуцента антибіотика ванкоміцину та на основі його фізіолого-біологічних особливостей – склад поживного середовища для культивування. Найбільш оптимальним для виробництва обрано продуцент *Amycolatopsis orientalis* (раніше *Streptomyces orientalis*) КССМ-10836Р, який отримують за допомогою обробки УФ-випромінюванням (250-280 нм).

2. Розглянуто способи відділення біомаси від культуральної рідини та обґрунтовано вибір оптимального технологічного способу. Параметри культивування включають температуру 34°C, аерацію з виходом продукту 10-12 г/л, рН 7,4 та тривалість культивування 120 годин.

3. Розроблено та вдосконалено схему виробництва антибіотика ванкоміцину у флаконах по 1000 мг у формі ліофілізату для розчину для інфузій. Оцінка продуктивності ванкоміцину, а також процес ферментації для виробництва ванкоміцину з використанням *Amycolatopsis orientalis* КССМ-10836Р в середовищі, що містить декстрин як джерело вуглецю, соєвий порошок або картопляний білок як джерело азоту та інших мікроелементів шляхом регулювання складу середовища та ферментації сприятиме запровадженню ефективного процесу очищення ванкоміцину, що забезпечує високу чистоту, низький вміст домішок і низьку токсичність.

4. Проведено технологічні розрахунки.

5. Наведено характеристику готової продукції відповідно до вимог чинної нормативної документації.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						87
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. ДБН В.2.5-67:2013. Опалення, вентиляція та кондиціонування. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=50154 (дата звернення: 20.01.2025).
2. ДБН В.2.5-28-2006. Природне і штучне освітлення. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0168667-06#Text> (дата звернення: 20.01.2025).
3. ДСТУ 1.5-2003. Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=7036 (дата звернення: 20.01.2025).
4. ДСТУ 1.7-2001. Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів. URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=45952 (дата звернення: 20.01.2025).
5. ДСТУ ISO 15378:2019. Матеріали первинні пакувальні на лікарські засоби. Окремі вимоги щодо застосування. URL: http://online.budstandart.com/ru/catalog/docpage?id_doc=88048 (дата звернення: 20.01.2025).
6. ДСТУ ISO 9003-95. Система якості. Модель забезпечення якості в процесі контролю готової продукції та її випробувань. URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=7036 (дата звернення: 20.01.2025).
7. Мілих В. І., Павленко Т. П. Електропостачання промислових підприємств : підруч. для студентів електромеханічних спец. Харків : ФОП Панов А. М., 2016. 272 с.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						88
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

8. СТ МОЗУ 42-1.0:2005. Фармацевтична продукція. Система стандартизації. Основні положення. URL: <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-1/st-n-mozu-42-1-0-2005> (дата звернення: 20.01.2025).

9. Comparative genomics reveals phylogenetic distribution patterns of secondary metabolites in *Amycolatopsis* species / M. Adamek et al. *BMC Genomics*. 2018. Vol. 19. P. 426.

10. Multidrug-Resistant Bacterial Infections in Solid Organ Transplant Candidates and Recipients / M. Bartoletti et al. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 2018. Vol. 32(3). P. 551–580.

11. The use of vancomycin with its therapeutic and adverse effects: a review / F. R. Bruniera et al. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2015. Vol. 19(4). P. 694–700.

12. MRSA colonization status as a predictor of clinical infection: A systematic review and meta-analysis / G. Butler-Laporte et al. *J. Infect.* 2018. Vol. 77(6). P. 489–495.

13. Barriers and facilitators of appropriate vancomycin use: prescribing context is key / J. O. S. Chan et al. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2018. Vol. 74(11). P. 1523–1529.

14. Drugs and Lactation Database (LactMed®). National Institute of Child Health and Human Development. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501922/> (Date of access: 20.01.2025).

15. Gerding D. N., Sambol S. P., Johnson S. Non-toxigenic *Clostridioides* (Formerly *Clostridium*) *difficile* for Prevention of *C. difficile* Infection: From Bench to Bedside Back to Bench and Back to Bedside. *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 1700.

16. Gerstein W., Colombo E., Harji F. Documented vancomycin-induced severe immune-mediated thrombocytopaenia. *BMJ Case Rep.* 2018. Vol. 2018. P. bcr2018224682.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						89
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

17. Validation of a Nomogram for Achieving Target Trough Concentration of Vancomycin: Accuracy in Patients With Augmented Renal Function / H. Ishii et al. *Ther Drug Monit.* 2018. Vol. 40(6). P. 693–698.

18. Jennings M. C., Minbiole K. P. C., Wuest W. M. Quaternary ammonium compounds: an antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. *ACS Infect. Dis.* 2015. Vol. 1. P. 288–303.

19. Hospital acquired vancomycin resistant enterococci in surgical intensive care patients – a prospective longitudinal study / S. Kampmeier et al. *Antimicrob Resist. Infect. Control.* 2018. Vol. 7. P. 103.

20. Atolypenes, Tricyclic Bacterial Sesterterpenes Discovered Using a Multiplexed In Vitro Cas9-TAR Gene Cluster Refactoring Approach / S. H. Kim et al. *ACS Synth. Biol.* 2019. Vol. 8. P. 109–118.

21. Kumari R., Singh P., Lal R. Genetics and genomics of the genus *Amycolatopsis*. *Indian J. Microbiol.* 2016. Vol. 56. P. 233–246.

22. Le V., Siriawatwechakul W. Sustainable vancomycin production from industrial residues and the effects of inoculum control to ensure reproducibility. *Bioresource Technology Reports.* 2021. Vol. 15. P. 100805.

23. Antimicrobial-resistant CC17 *Enterococcus faecium*: The past, the present and the future / T. Lee et al. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019. Vol. 16. P. 36–47.

24. Levitus M., Rewane A., Perera T. B. Vancomycin-Resistant Enterococci. *StatPearls.* 2023. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/> (Date of access: 20.01.2025).

25. Vancomycin-induced ototoxicity in very-low-birthweight infants / J. Marissen et al. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020. Vol. 75(8). P. 2291–2298.

26. Scaffold-hopping of multicationic amphiphiles yields three new classes of antimicrobials / M. M Mitchell et al. *Chem. Bio. Chem.* 2015. Vol. 16. P. 2299–2303.

27. Vancomycin therapeutic drug monitoring and population pharmacokinetic models in special patient subpopulations / J. F. Monteiro et al. *Pharmacol. Res. Perspect.* 2018. Vol. 6(4). P. e00420.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						90
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

28. Total synthesis and initial examination of $[\Phi[C(=S)NH]Tpg4]$ vancomycin, $[\Phi[C(=NH)NH]Tpg4]$ vancomycin, $[\Phi[CH_2NH]Tpg4]$ vancomycin and their (4-chlorobiphenyl)methyl derivatives: synergistic binding pocket and peripheral modifications for the glycopeptide antibiotics / A. Okano et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2015. Vol. 137. P. 3693–3704.

29. Okano A., Isley N. A., Boger D. L. Total Syntheses of Vancomycin Related Glycopeptide Antibiotics and Key Analogues. *Chem. Rev.* 2017. Vol. 117(18). P. 11952–11993.

30. Amycolatopsis oliviviridis sp. nov., a novel polylactic acid-bioplastic-degrading actinomycete isolated from paddy soil / W. Penkhrue et al. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. Vol. 68. P. 1448–1454.

31. Revisiting the taxonomic status of the biomedically and industrially important genus Amycolatopsis, using a phylogenomic approach / V. Sangal et al. *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. P. 2281.

32. Tan G. Y. A., Goodfellow M. Amycolatopsis. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / ed. W. B Whitman. Hoboken, NJ, 2015. P. 1–40.

33. The National Center for Biotechnology Information (Assembly). URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly (Date of access: 20.01.2025).

34. Ecology and genomics of Actinobacteria: New concepts for natural product discovery / D. A. Van Bergeijk et al. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. Vol. 18. P. 546–558.

35. A genetics-free method for high-throughput discovery of cryptic microbial metabolites / F. Xu et al. *Nat. Chem. Biol.* 2019. Vol. 15. P. 161–168.

36. Research of optimal dosing regimens and therapeutic drug monitoring for vancomycin by clinical pharmacists: analysis of 7-year data / G. Xu et al. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2018. Vol. 30(7). P. 640–645.

37. Membrane disruption and enhanced inhibition of cell wall biosynthesis: a synergistic approach to tackle vancomycin-resistant bacteria / V. Yarlagadda et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015. Vol. 54. P. 13644–13649.

					162.02.02.00 000 ПЗ	Арк.
						91
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата		

ДОДАТКИ

