

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

(повне найменування інституту/факультету)

Кафедра промислової фармації

(повна назва кафедри)

*Дипломна магістерська робота*

на тему: «Обґрунтування складу і технології виробництва ліофілізованого порошку для отримання парентерального лікарського засобу»

Виконала: студентка групи МгХФ-20  
спеціальності 226 Фармація, промислова  
фармація

(шифр і назва спеціальності)

освітньої програми Промислова  
фармація

(назва освітньої програми)

Алла ГОНЧАРУК

(прізвище та ініціали)

Керівник к. фарм. н., доц. Олена САЛІЙ

(прізвище та ініціали)

Рецензент к. х. н., проф. Ольга БАУЛА

(прізвище та ініціали)

Київ – 2021

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Промислова фармація

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**Завідувач кафедри промислової фармації**

\_\_\_\_\_ Владислав СТРАШНИЙ

«\_\_» грудня 2021 року

## **ЗАВДАННЯ**

**НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

**Гончарук Аллі Юрїївні**

(прізвище, ім'я, по батькові)

**1. Тема роботи** «Обґрунтування складу і технології виробництва ліофілізованого порошку для отримання парентерального лікарського засобу»

Науковий керівник роботи Салій Олена Олександрівна, к.фарм.н.,доц.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від “04” жовтня 2021 року № 286

**2. Строк подання студентом роботи** \_\_\_\_\_

**3. Вихідні дані до роботи** науково-інформаційні джерела, навчально-методична література, каталоги технологічного обладнання, аналізи досліджень, міжнародні та вітчизняні нормативно-правові акти та стандарти щодо розробки та виробництва препаратів у формі ліофілізованих порошків.

**4. Зміст дипломної роботи** вступ; огляд літератури щодо розробки ліофілізованих порошків; фармацевтична розробка композиції з доксицикліну хіклатом; розробка GMP концепції виробництва лікарського засобу; загальні висновки; список використаних джерел.

## 5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	Олена САЛІЙ, к.фарм.н., доц.		
Розділ 2	Олена САЛІЙ, к.фарм.н., доц.		
Розділ 3	Олена САЛІЙ, к.фарм.н., доц.		
Висновок	Олена САЛІЙ, к.фарм.н., доц.		

6. Дата видачі завдання 20 вересня 2021 року

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	20.09. – 27.09.2021	
2	Огляд інформації щодо розробки лікарських засобів для антибактеріальної терапії	28.09. – 11.10.2021	
3	Фармацевтична розробка ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом	12.10. – 25.10.2021	
4	Розробка GMP концепції технології виробництва лікарського засобу доксицикліну хіклату для парентерального застосування	26.10. – 08.11.2021	
5	Висновки	09.11. – 15.11.2021	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи	16.11. – 22.11.2021	
7	Здача дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування	23.11. – 02.12.2021	
8	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату	03.12. – 05.12.2021	
9	Подання дипломної магістерської роботи у відділ магістратури для перевірки виконання додатку до індивідуального навчального плану	05.12. – 07.12.2021	
10	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри	08.12. – 10.12.2021	

Студент

\_\_\_\_\_ (підпис)

Алла ГОНЧАРУК

Науковий керівник роботи

\_\_\_\_\_ (підпис)

Олена САЛІЙ

Директор НМЦУПФ

\_\_\_\_\_ (підпис)

Олена ГРИГОРЕВСЬКА

## АНОТАЦІЯ

### **Гончарук А.Ю. Обґрунтування складу і технології виробництва ліофілізованого порошку для отримання парентерального лікарського засобу. – Рукопис.**

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2021 рік.

Дипломну магістерську роботу присвячено розробці та дослідженню композиції парентерального препарату у формі ліофілізованого порошку на основі доксицикліну хіклату. В процесі досліджень було підібрано оптимальний склад допоміжних речовин, що виконують функції антиоксидантів та стабілізаторів розчину, схильного до зміни рН в процесі зберігання. Запропоновано технологію виготовлення з використанням прийому висвітлення сорбентом, обладнання, первинну упаковку, технологічну схему, валідаційний майстер-план та діаграму Ішикави для аналізу ризиків процесу виробництва.

Проведені дослідження *in vitro* ліофілізату та твердих желатинових капсул підтверджують еквівалентність їх бактеріостатичної дії щодо збудників бактеріальних інфекцій. На основі контролю *in vivo* аномальної токсичності доведено відсутність побічних реакцій протягом 72 годин після введення.

*Ключові слова: ліофілізований порошок для розчину для ін'єкцій, доксицикліну хіклат, бактеріостатична дія, аномальна токсичність.*

## ABSTRACT

### **Honcharuk A.Yu. Justification of the composition and production technology of lyophilized powder for obtaining a parenteral drug. – Manuscript.**

Master's thesis on the specialty 226 Pharmacy, industrial pharmacy. – Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2021.

Master's thesis is devoted to development and research of composition of parenteral drug in form of lyophilized powder based on doxycycline hyclate. During the studies, the optimal composition of the excipients, acting as antioxidants and stabilisers for a solution prone to pH changes during storage, was selected. A manufacturing technology with the use of technique of solution clarification with sorbent is offered. Equipment, primary packaging, flow chart, validation master plan and Ishikawa diagram for risk analysis of the manufacturing process was proposed.

In vitro studies of lyophilizate and solid gelatin capsules confirm the equivalence of their bacteriostatic action against pathogens of bacterial infections. Based on in vivo control of abnormal toxicity, the absence of adverse reactions within 72 h after administration has been proved.

*Key words: lyophilized powder for solution for injection, doxycycline hyclate, bacteriostatic action, abnormal toxicity.*

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

EMA	– Європейське агентство з лікарських засобів;
EP	– Європейська фармакопея;
FDA	– Управління з контролю за продуктами і ліками США;
GMP	– Належна виробнича практика;
ICH	– Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації препаратів для людського використання;
ISO	– Міжнародна організація стандартизації;
WHO	– Всесвітня організація охорони здоров'я;
ATX	– Анатомо-терапевтично-хімічна класифікація;
АФІ	– Активний фармацевтичний інгредієнт;
ВКЯ	– Відділ контролю якості;
ГЛЗ	– Готовий лікарський засіб;
ГП	– Готовий продукт;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
ЄС	– Європейський союз;
ЛЗ	– Лікарський засіб;
ЛФ	– Лікарська форма;
МІК	– Мінімальна інгібуюча концентрація;
МКЯ	– Методи контролю якості;
МНН	– Міжнародна непатентована назва;
НТД	– Нормативно-технічна документація;
ОДО	– Однорідність дозованих одиниць;
ПП	– Проміжний продукт;
СОП	– Стандартна операційна процедура;
СП	– Специфікація контролю якості;
СУЯ	– Система управління якістю;
ТІ	– Технологічна інструкція;
ТП	– Технологічний процес.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ІНФОРМАЦІЇ ЩОДО РОЗРОБКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ.....	12
1.1 Аналіз ринку антибактеріальних лікарських засобів системної дії.....	12
1.2 Шляхи доставки доксицикліну хіклату для лікування інфекційних захворювань .....	19
1.3 Біофармацевтичні аспекти створення парентеральних препаратів .....	23
1.4 Особливості організації виробництва парентеральних ЛЗ.....	28
1.5 Вимоги ДФУ до розчинів для парентерального застосування.....	32
1.6 Теоретичні аспекти процесу ліофілізації.....	36
Висновок до розділу 1.....	39
РОЗДІЛ 2 ФАРМАЦЕВТИЧНА РОЗРОБКА ЛІОФІЛІЗОВАНОГО ПОРОШКУ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ .....	41
2.1 Фармацевтична розробка.....	41
2.1.1 Діюча речовина. Фізико-хімічні властивості субстанції доксицикліну хіклату .....	42
2.1.2 Допоміжні речовини .....	49
2.2 Розробка складу ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом .....	49
2.3 Розробка виробничого процесу .....	57
2.4 Система контейнер/закупорювальний засіб.....	59
2.5 Біологічні випробування лікарського засобу .....	61
2.5.1 Порівняльні дослідження антибактеріальної дії ліофілізованого порошку доксицикліну хіклату.....	62
2.5.2 Мікробіологічні випробування за показником «Стерильність» .....	68
2.5.3 Тест за показниками «Аномальна токсичність» та «Пірогенність» .....	69
Висновок до розділу 2.....	70
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА GMP КОНЦЕПЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТУ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ .....	72
3.1 Огляд технологічного обладнання .....	72
3.2 Виробнича рецептура.....	77
3.3 Характеристика сировини та матеріалів.....	78

3.4 Технологічна схема виготовлення ліофілизованого порошку .....	80
3.5 Короткий опис технології.....	81
3.6 Контроль якості готового продукту .....	84
3.7 Управління ризиками для якості .....	86
3.8 Валідація технологічного процесу .....	87
Висновок до розділу 3.....	94
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ .....	95
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	97
ДОДАТОК А.....	108
ДОДАТОК Б .....	111



## ВСТУП

**Актуальність теми.** Однією з основних проблем сучасної медицини є лікування бактеріальних інфекцій, викликаних збудниками, що набули резистентності до часто вживаних антибіотиків. Для терапії таких хвороб необхідно використовувати класичні субстанції зі збереженою активністю [86].

Доксициклін є антибіотиком з широким спектром бактеріостатичної дії, який застосовується для лікування інфекцій сечостатевої, травної, дихальної систем організму, та виступає в якості препарату першого вибору при ураженні рикетсіями або кліщами, зокрема хворобі Лайма [62]. Під час спалаху COVID-19 для початкової пероральної терапії пневмонії пріоритет надається доксицикліну, оскільки він є нетрадиційним потенційно ефективним антибіотиком щодо збудників вірусів, як лихоманка денге та чікунгуня, початкової інфекції, реплікації та системної реакції на тяжкий гострий респіраторний синдром SARS CoV-2 [50, 87].

На ринку України асортимент препаратів доксицикліну хіклату представлений лише кількома найменуваннями у формі таблеток та капсул, тому пошук нових шляхів доставки субстанції є актуальним напрямом фармацевтичної розробки [34]. Відомо, що парентеральна терапія доксицикліном показана, коли пероральне введення неможливе, при цьому доза та частота прийому ін'єкційної форми (100-200 мг/день) відрізняється від інших тетрациклінів (1-2 г/день) та відповідає добовому дозуванню твердих форм [62].

Парентеральний шлях доставки уникає проблем неприємного смаку та повільного вивільнення антибіотика, але його водні розчини мають схильність до зміни рН, забарвлення, утворення побічних продуктів, котрі можуть викликати побічні реакції при введенні до системного кровотоку [66]. Для забезпечення стабільності парентеральних форм доксицикліну актуальною є розробка ліофілізованих порошків для приготування розчинів для внутрішньовенних ін'єкцій. Завдяки технології ліофільного висушування можна досягти стабільної та швидкорозчинної форми антибіотика, а також гарантувати якість, безпечність та ефективність розробленого антибактеріального препарату.

**Мета роботи.** Розробка і оцінка композиції ліофілізованого порошку для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату шляхом проведення фізико-хімічних, технологічних та доклінічних досліджень.

**Основні завдання дослідження:**

1. Провести маркетинговий аналіз ринку зареєстрованих в Україні антибактеріальних ЛЗ для системного застосування.
2. Проаналізувати асортимент лікарських форм доксицикліну у світі та обґрунтувати доцільність фармацевтичної розробки вітчизняного генеричного ЛЗ.
3. Обґрунтувати склад та розробити композицію ліофілізату для ін'єкцій.
4. Розробити технологічний процес виготовлення ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату із застосуванням прийому висвітлення розчину сорбентом та запропонувати первинне пакування, перелік допоміжних матеріалів, технологічну схему виробництва, обладнання, специфікацію для контролю якості ГЛЗ.
5. Провести планування перспективної валідації, аналіз ризиків для якості.
6. Підтвердити еквівалентність розробленої фармацевтичної композиції у дослідженнях бактеріостатичної активності порівняно з твердими желатиновими капсулами та безпечність за показниками «Пірогенність» і «Аномальна токсичність» на лабораторних тваринах.

**Об'єкт дослідження:** Ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату та допоміжні речовини, що входять до його складу.

**Предмет дослідження.** Фізико-хімічні властивості компонентів препарату, ЛЗ у формі ліофілізованого порошку, особливості технології та застосування прийому висвітлення сорбентом, бактеріостатична активність.

**Методи дослідження.** В процесі розробки задіяно наступні методи:

- Теоретичний (аналіз наукової літератури, стандартів якості та ін.);
- фізичні та фізико-хімічні методи аналізу відповідно до вимог ДФУ;
- фармако-технологічні випробування відповідно до вимог ДФУ.
- мікробіологічні випробування *in vitro*;
- доклінічні випробування *in vivo* на лабораторних тваринах.

**Наукова новизна роботи.** Розроблено склад ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату із використанням нового стабілізатора. Запропоновано технологію виробництва із введенням прийому обробки активованим вугіллям, розроблено діаграму Ішикави для аналізу ризиків для якості та складено валідаційний майстер-план.

**Практична значущість роботи.** Результати проведених досліджень мають практичне значення для розробки нових парентеральних препаратів-антибіотиків у формі ліофілізатів.

**Публікації.** Прийнята участь у I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» 25 березня 2021 року, Харків) та опубліковано тези доповідей: «Лікарські форми та сучасні шляхи доставки доксицикліну хіклату».

Подана стаття до редакції журналу «Вісник фармації» Вітебського державного ордену Дружби народів медичного університету на тему «Розробка і оцінка ліофілізованого порошку для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну», яку буде опубліковано у примірнику №3 за 2021 рік.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ІНФОРМАЦІЇ ЩОДО РОЗРОБКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ

#### 1.1 Аналіз ринку антибактеріальних лікарських засобів системної дії

Аналіз зареєстрованих в Україні лікарських препаратів, які застосовуються у терапії бактеріальних інфекцій, проведено на основі даних Державного реєстру лікарських засобів України [6], електронних баз даних, класифікаційної системи АТХ і реєстру інформаційно-пошукової програми «Компедіум» [13]. В процесі дослідження задіяні структурний, системно-аналітичний, математико-статистичний, порівняльний, графічний методи аналізу та систематизація.

Для маркетингового аналізу показників було застосовано АТХ-класифікацію, що дає можливість отримати найбільш точні результати, адже кожен препарат відноситься тільки до однієї з груп. Так, за АТХ класифікацією, досліджувані препарати належать до групи J01 «Антибактеріальні засоби для системного застосування» [40].

На основі даних системного аналізу, було встановлено, що загальна кількість зареєстрованих в Україні антибактеріальних лікарських засобів системної дії становить 974 торгових найменувань. Розподіл препаратів за групами класифікації АТХ наведений у табл. 1.1., дані якої свідчать про те, що найбільший сегмент (38,1 %) серед протимікробних препаратів належить іншим бета-лактамним антибіотикам групи J01D. Друге місце займають представники хінолінів (18,3 %) групи J01M, третє – макроліди, лінкозаміди і стрептограміни (14,5 %), які входять до групи J01F.

Таблиця 1.1 – Поділ зареєстрованих в Україні антибактеріальних препаратів для системного застосування за групами класифікації АТХ

Шифр групи	Фармакотерапевтична група	Кількість ГЛЗ
J01A	Тетрацикліни	9
J01B	Амфеніколи	9
J01C	Бета-лактамні антибіотики, пеніциліни	103
J01D	Інші бета-лактамні антибіотики	371
J01E	Сульфаніламід та триметоприм	25

Шифр групи	Фармакотерапевтична група	Кількість ГЛЗ
J01F	Макроліди, лінкозаміди і стрептограміни	142
J01G	Аміноглікозиди	19
J01M	Антибактеріальні засоби з групи хінолонів	178
J01R	Комбіновані антибактеріальні засоби	10
J01X	Інші антибактеріальні засоби	108
	<b>Разом</b>	<b>974</b>

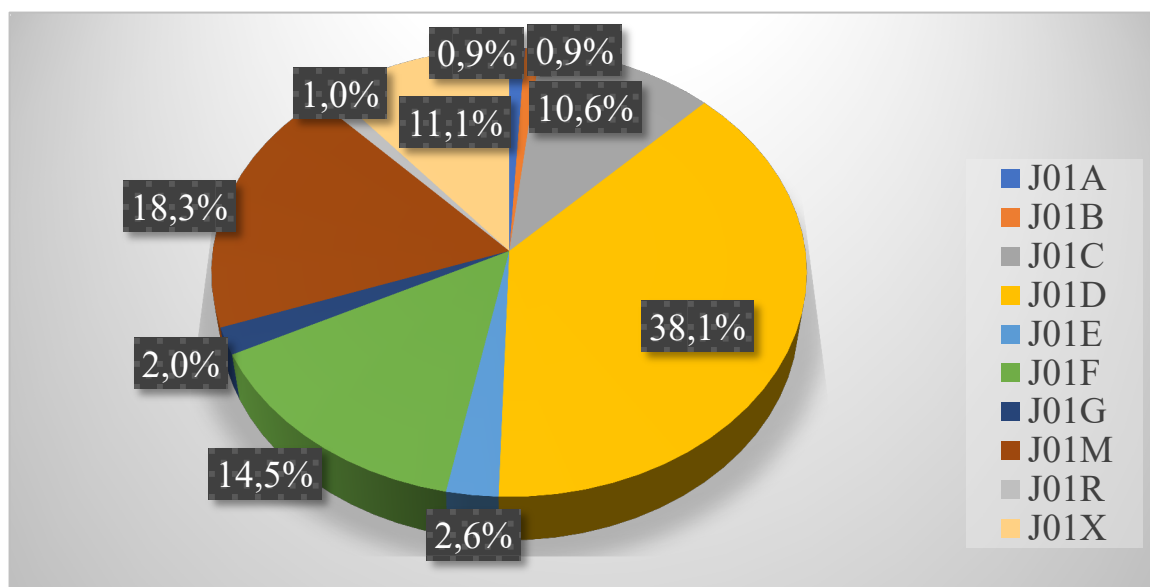


Рисунок 1.1 – Розподіл протимікробних лікарських засобів, зареєстрованих в Україні за групами класифікації АТХ

Препарати на основі доксицикліну відносяться до групи АТХ J01A. Як видно з рис. 1.1 фармацевтична група J01 A тетрациклінів займає 0,9%.

Здійснений аналіз показав, що до складу лікарських засобів, які застосовуються в терапії бактеріальних інфекцій, входять 72 діючі речовини (табл. 1.2). Більшість торгових найменувань (10,2 %) містять левофлоксацин, 8,3 % амоксицилін та 8,1% мають у своєму складі антибіотик III-го покоління – цефтриаксон.

Таблиця 1.2 – Розподіл зареєстрованих в Україні антибактеріальних препаратів за складом діючих речовин

№ п/п	МНН	Кількість торгових найменувань	№ п/п	МНН	Кількість торгових найменувань
1	Азитроміцин	74	37	Поліміксин В	1
2	Азтреонам	1	38	Спектиноміцин	1
3	Амікацин	8	39	Спіраміцин	7

№ п/п	МНН	Кількість торгових найменувань	№ п/п	МНН	Кількість торгових найменувань
4	Амоксицилін	81	40	Стрептоміцин	2
5	Ампіцилін	7	41	Сульфадиметоксин	5
6	Бензилпеніцилін	6	42	Сульфадимідин	1
7	Ванкоміцин	45	43	Сульфаметоксазол	13
8	Гатифлоксацин	6	44	Сульфаніламід	6
9	Гентаміцин	4	45	Тайгециклін	3
10	Даптоміцин	5	46	Тейкопланін	4
11	Джозаміцин	2	47	Тетрациклін	2
12	Діоксидину	2	48	Тинідазол	3
13	Доксициклін	4	49	Тіамфенікол	1
14	Дорипенем	2	50	Тобраміцин	4
15	Еритроміцин	2	51	Триметоприм	13
16	Ертапенем	2	52	Фосфоміцин	15
17	Іміпенем	11	53	Фурагін	4
18	Канаміцин	1	54	Фуразидин	1
19	Кларитроміцин	41	55	Хлорамфенікол	8
20	Кліндаміцин	8	56	Хлорофіліпт	1
21	Колістиметат натрію	12	57	Цефазолін	9
22	Левофлоксацин	99	58	Цефалексин	6
23	Лінезолід	18	59	Цефдинір	5
24	Лінкоміцин	6	60	Цефдиторен	1
25	Ломефлоксацин	1	61	Цефепім	56
26	Меропенем	40	62	Цефіксим	13
27	Метронідазолу	16	63	Цефоперазон	42
28	Мідекаміцин	2	64	Цефотаксим	13
29	Моксифлоксацин	30	65	Цефподоксим	42
30	Нітроксолін	2	66	Цефтазидим	44
31	Нітрофурантоїн	1	67	Цефтолозан	1
32	Норфлоксацин	3	68	Цефтриаксон	79
33	Орнідазол	10	69	Цефуроксим	47
34	Офлоксацин	13	70	Ципрофлоксацин	30
35	Піпемідова кислота	1	71	Комбіновані ліки	169
36	Піперацилін	9			
	<b>Всього</b>				<b>974</b>

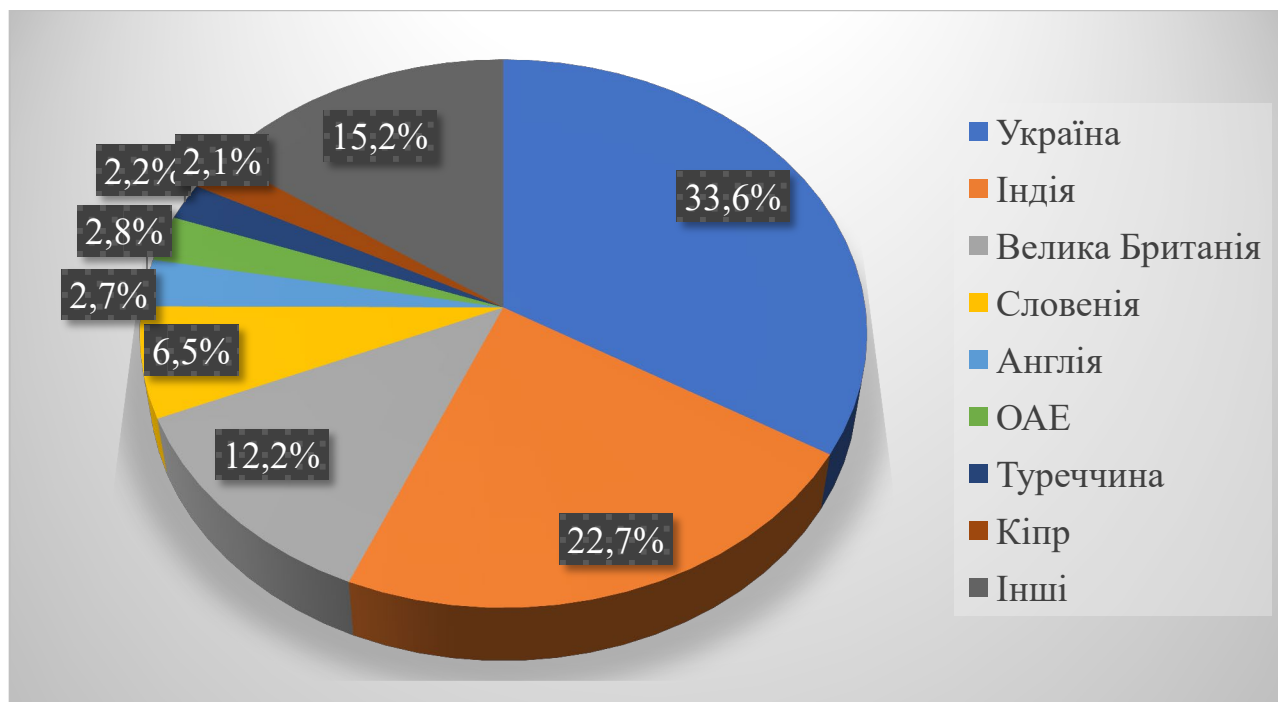


Рисунок 1.3 – Розподіл зареєстрованих в Україні антибактеріальних препаратів за країною-виробником

Розподіл зареєстрованих в Україні антибактеріальних лікарських засобів за країною-виробником, зображено на рис. 1.3.

Як видно, більшість препаратів даної терапевтичної групи виготовляється в Україні – їх сегмент на ринку займає 33,6 %. Країною-імпортером, що постачає найбільше торгових найменувань є Індія (22,7 %), а третє місце посідають лікарські засоби, вироблені у Великій Британії, їх частка становить 12,2 % [2].

Аналіз ринку препаратів антибіотиків, наявних на ринку України за видом лікарської форми представлено на рис. 1.4.

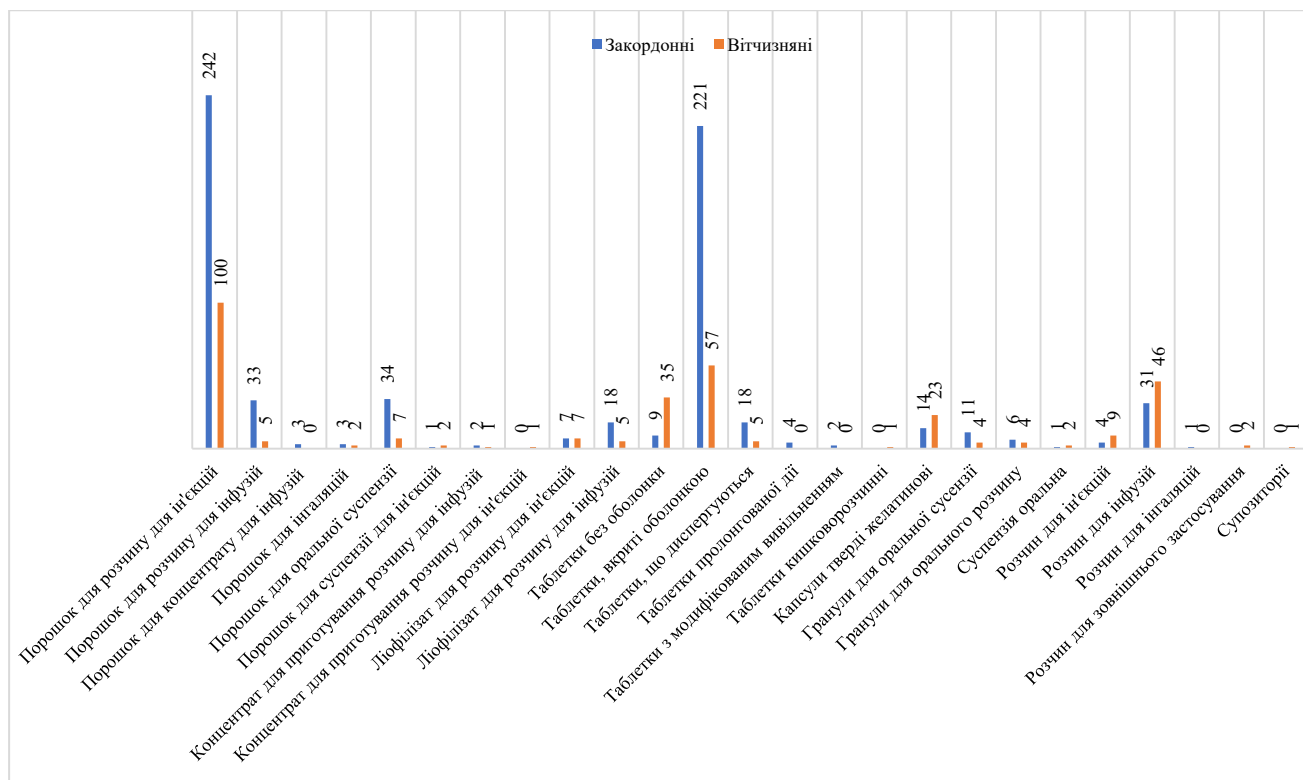


Рисунок 1.4 – Аналіз ринку препаратів антибіотиків за видом лікарської форми

З рис. 1.4 можна зробити висновок, що серед вітчизняних препаратів найбільшу частку за видом лікарської форми займають порошки для приготування розчинів для ін'єкцій, таблетки, вкриті оболонкою, а також, розчини для інфузій. В незначних кількостях наявні інші типи таблеток (таблетки, що диспергуються, кишковорозчинні, без оболонки), порошки (для розчину для інфузій, інгаляцій, суспензій оральних та для ін'єкцій), тверді желатинові капсули, гранули, ліофілізати, розчини для внутрішньовенного та зовнішнього застосування, оральні суспензії, супозиторії, відсутні – порошки і розчини для інгаляцій та таблетки з модифікованим вивільненням. Встановлено **всього закордонних препаратів – 655, вітчизняних – 319**. Відсутність виробничих дільниць з виготовлення порошоків та розчинів для інгаляцій, концентратів, таблеток з модифікованим вивільненням і пролонгованою дією, зумовлює необхідність організації виробництва зазначених лікарських форм антибактеріальних препаратів на базі фармацевтичних підприємств України.



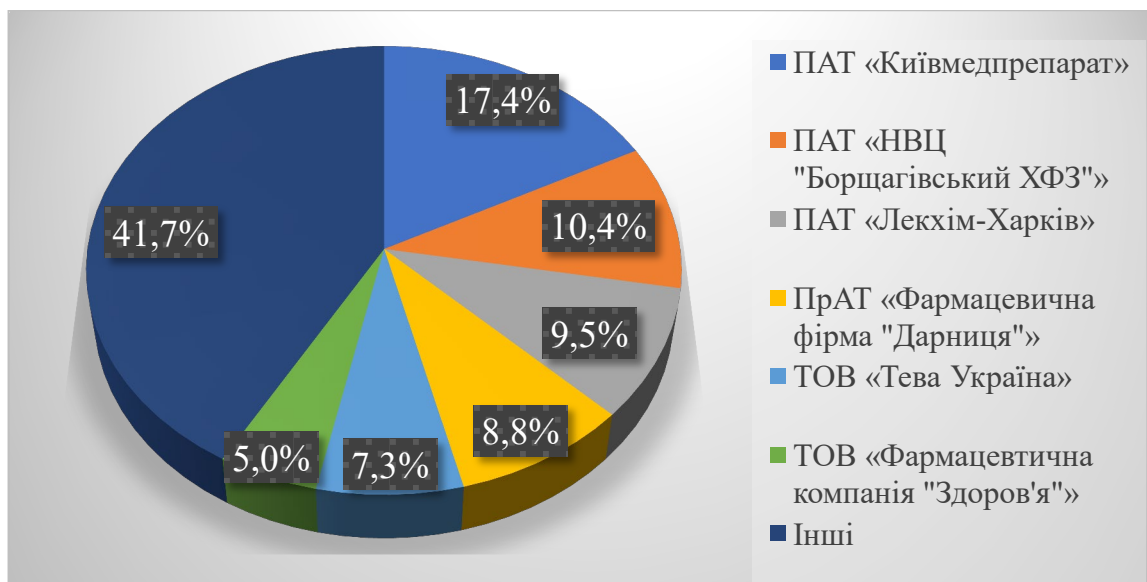


Рисунок 1.5 – Розподіл зареєстрованих в Україні вітчизняних антибактеріальних препаратів за виробником

Серед 37 вітчизняних підприємств-виробників найбільшу частку продукції виготовляє ПАТ «Київмедпрепарат» (м. Київ) – 17,4 %; 10,4 % займають лікарські засоби виробництва ПАТ «НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ), 9,5 % – ПАТ «Лекхім-Харків» (м. Харків); 8,8 % – ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (м. Київ); 7,3 % – ТОВ «Тева Україна» (м. Київ) та 5,0 % – ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (м. Харків). Інші 31 заводи-виробники, серед яких ТОВ «Юрія-Фарм» (м. Київ), ТОВ «Астрафарм» (Київська обл.), ПрАТ «Технолог» (м. Умань), ПрАТ «Інфузія» (м. Вінниця), ТОВ «Фармекс Груп» (Київська обл.) та ін., сумарно займають сегмент, який становить 41,7 % ринку (рис. 1.5) [46].

Більшість лікарських засобів, котрі застосовують у терапії бактеріальних інфекцій, випускається у вигляді порошків для ентерального та парентерального способу введення, частка яких становить 44,3 %. Крім того, у групі присутні різні типи таблеток (36,1 %), розчини для внутрішньовенного або зовнішнього застосування (9,5 %) та інші лікарські форми, серед яких концентрати, ліофілізати, гранули, суспензії і супозиторії, їх сегмент займає 10,1 % асортименту (рис. 1.6).

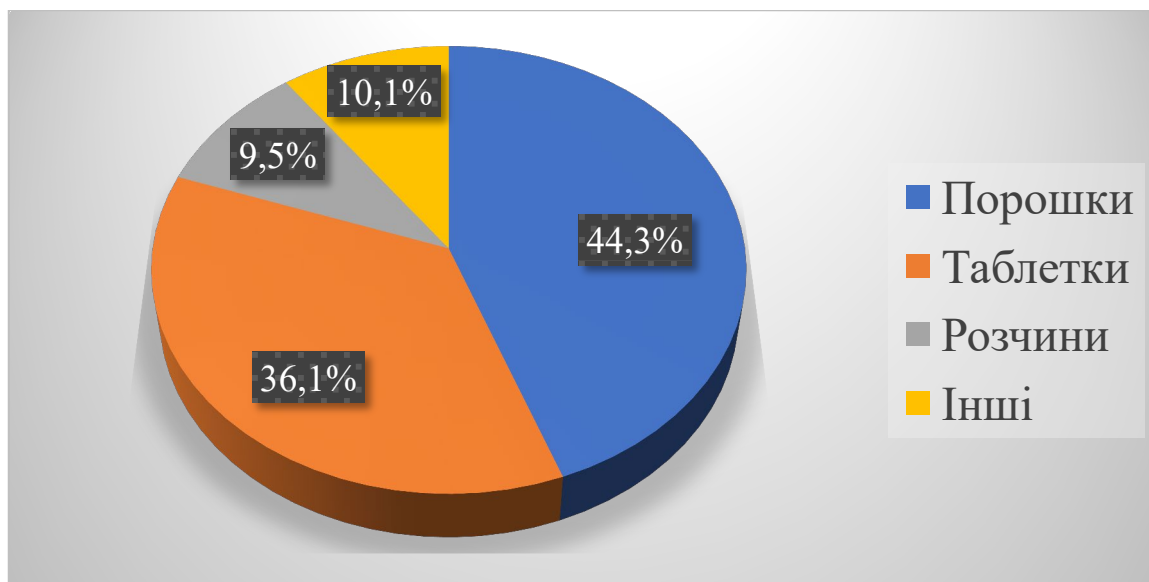


Рисунок 1.6 – Розподіл зареєстрованих в Україні антибактеріальних препаратів для системного застосування за формою випуску

Переважає більшість препаратів, які застосовуються у терапії бактеріальних інфекцій, містять лише один активний фармацевтичний інгредієнт, а комбіновані лікарські засоби займають лише 17,4 % від загального об'єму ринку (рис. 1.7).

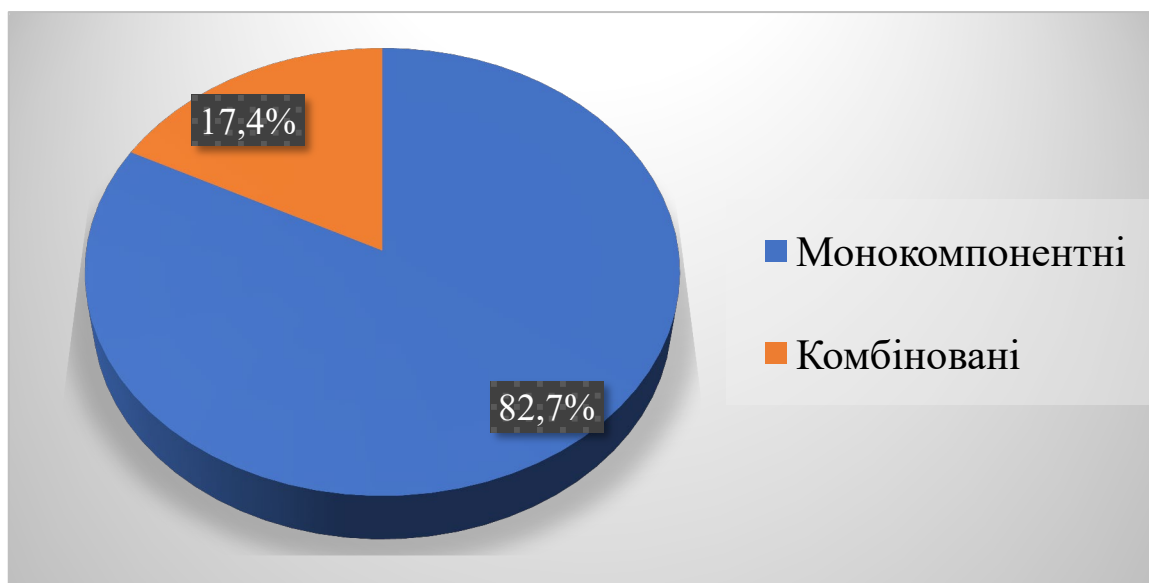


Рисунок 1.7 – Розподіл зареєстрованих в Україні препаратів антибіотиків за складом

Отже, аналіз зареєстрованих в Україні антибактеріальних препаратів для системного застосування показав, що загальна кількість лікарських засобів становить 974 торгових найменувань, при чому близько 34 % асортименту виготовляється на дільницях вітчизняних фармацевтичних підприємств. Серед

zareєстрованої продукції українських заводів-виробників найбільший сегмент ринку належить препаратам виробництва ПАТ «Київмедпрепарат» (м. Київ) – 17,4 % і ПАТ «НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ) – 10,4 %.

Препарати на основі доксицикліну відносяться до групи АТХ J01A, що складає 0,9 % від загальної кількості зареєстрованих антимікробних препаратів.

## **1.2 Шляхи доставки доксицикліну хіклату для лікування інфекційних захворювань**

Основу етіотропної терапії бактеріальних інфекцій складають антибактеріальні препарати, а однією з найбільш застосовуваних груп діючих речовин вважаються тетрацикліни, представником яких є доксициклін.

Доксициклін – це напівсинтетичний антибіотик широкого спектру дії, що виявляє бактеріостатичну активність унаслідок пригнічення процесу утворення білка збудника. Він застосовується при лікуванні різних інфекційних захворювань, зокрема терапії інфекцій сечовивідних, дихальних шляхів та ШКТ, а також, є препаратом першого вибору при таких кліщових захворюваннях, як борреліоз (хвороба Лайма) та риккетсійні інфекції [32, 43].

На даний момент у світі спостерігається масове зростання резистентності збудників до широко застосовуваних антибіотиків, що обґрунтовує необхідність повернення терапії класичними лікарськими засобами, які характеризуються збереженою активністю за відповідними показниками [32, 57].

Для початкової терапії при лікуванні пневмонії у періоди епідеміологічного спалаху та розповсюдження корона вірусної інфекції COVID-19, доксициклін було рекомендовано пероральним антибіотиком першого вибору, що пояснюється більш широким спектром дії ніж у амоксициліну [33].

Ефективність використання будь-якого препарату залежить від правильного вибору ЛФ та способу введення, що, в свою чергу, залежить від фізико-хімічних властивостей діючих та допоміжних речовин. Тетрацикліни легко всмоктуються та зв'язуються з білками плазми крові. АФІ майже повністю всмоктуються при

пероральному способі уведення. Різні сольові форми доксицикліну діють, блокуючи синтез білка, що забезпечує пригнічення росту патогенних бактерій.

Тому було проведено аналіз асортименту ГЛЗ, активним фармацевтичним інгредієнтом яких є доксициклін. Отримані дані представлено у табл. 1.3.

Таблиця 1.3 – Перелік зареєстрованих форм, що містять доксициклін та можуть бути застосовані у лікарській практиці [32]

Лікарська форма	Дозування та фасування	Торгова назва та виробник	Реєстрація в Україні
<i>Доксицикліну хіклат / Доксицикліну гідрохлорид</i>			
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій	по 100 мг у флаконах №5	Vibramycin Inj (Pfizer)	Відсутня
Ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій	по 100 мг у флаконах №10 та №12	Doxy 100 (Fresenius Kabi)	Відсутня
		<i>Doxycycline</i> (Mylan Institutional, Zydus)	Відсутня
Таблетки, вкриті плівковою оболонкою	по 75, 150 мг у пляшці №60	Acticlate (Aqua Pharmaceuticals)	Відсутня
Таблетки з відстроченим вивільненням	по 50, 75, 100, 150, 200 мг у пляшці №60 та №120	Doryx (Mayne Pharma Group L.)	Відсутня
	по 100 мг у блістерах №14	LymePak (Chartwell Pharmaceuticals)	Відсутня
Гранули з відстроченим вивільненням	по 75, 100 мг у пляшці №60 та №120	Doryx (Mayne Pharma Group L.)	Відсутня
Капсули желатинові тверді	по 100 мг у блістерах №10	Доксициклін-Дарниця (ПрАТ «Дарниця»)	Так
		Доксициклін (ПАТ НВЦ Борщагівський ХФЗ)	Так
	по 50, 75, 100 мг у блістерах №10	Monodox (Aqua Pharmaceuticals)	Відсутня
	по 100 мг у блістерах №6	Vibramycin Cap (Pfizer)	Відсутня
Капсули з	по 75, 100 мг у	Doryx (Mayne	Відсутня

Лікарська форма	Дозування та фасування	Торгова назва та виробник	Реєстрація в Україні
відстроченим вивільненням	пляшці №25	Pharma)	Відсутня
	по 40 мг у пляшці №30	Oracea (Group Limited)	
Капсули желатинові тверді	по 100 мг у блістерах №10	Doxicip-100 (Cipla Limited)	Відсутня
Ліофілізат для приготування розчину для інфузій	по 100, 200 мг у флаконах №5	Доксициклін-Ферейн (ПАТ «Бринцалов-А»)	Відсутня
	по 100 мг у флаконі №1	Відокцин (ПФК «Пребенд»)	Відсутня
<i>Доксицикліну моногідрат</i>			
Порошок для оральної суспензії	25 мг/5мл у пластикових пляшках по 60 мл	Vibramycin (Pfizer)	Відсутня
Таблетки без оболонки	по 100 мг у блістерах №10	Доксициклін-Тева (Teva Pharmaceutical Industries Ltd.)	Так
Таблетки дисперговані	по 100 мг у блістерах №10	Юнідокс-Солютаб (Astellas Pharma Europe)	Так
	по 100, 200 мг у блістерах №10	Vibramycin (Pfizer)	Відсутня
Сироп	по 50 мг/5 мл у пластикових пляшках	Vibramycin Calcium (Pfizer)	Відсутня

З проведеного дослідження можна побачити, що активна субстанція представлена у широкому асортименті лікарських форм [3].

ГЛЗ на основі доксицикліну виготовляються із використанням двох його солей – хіклату (гідрохлориду) та моногідрату. Встановлено, що хіклат є більш затребуваною сольовою формою антибіотика ніж моногідрат. Це пояснюється вищим показником розчинності, яка відіграє важливу роль у технології виробництва, забезпеченні необхідних фармакокінетичних та фармакодинамічних параметрів препарату. При цьому моногідратна форма має здатність краще переноситись, тому ефективність обох солей є порівнюваною [33].

На наступному етапі було здійснено огляд літературних джерел – статей та патентів, на наявність нових шляхів доставки антибіотика. Перелік ЛФ доксицикліну, котрі перебувають у розробці відображено в табл. 1.4.

Таблиця 1.4 – Лікарські форми доксицикліну, які перебувають на етапі фармацевтичної розробки

<b>Діюча речовина (АФІ)</b>	<b>Лікарська форма</b>
Доксицикліну хіклат / Доксицикліну гідрохлорид	Очні краплі [26]
	Гель для зовнішнього застосування [25]
	Песарії [39]
	Мікрокапсули [27]
	Розчин для ін'єкцій [30]
	Емульсія [29]
	Інгаляція [58]
	Гель для субгінгвального застосування [51]
Супозиторії [48]	
Доксицикліну моногідрат	Гель для зовнішнього застосування [28]

Перспективним напрямом вважається розробка систем з нанорозмірними носіями (ніосомами) для очного введення ліків, оскільки було встановлено, що вони підвищують біодоступність різних препаратів та покращують їх ефективність. Ніосоми можна розглядати як альтернативну платформу доставки препаратів для офтальмологічного застосування доксицикліну [59].

Значна увага вчених зосереджена на створенні антибактеріальних ЛЗ, призначених для місцевого застосування у стоматології, так як було доведено, що АФІ швидко концентрується у кривікулярній рідині та демонструє широкий спектр дії проти патогенних мікроорганізмів пародонту [65].

Інгаляційний спосіб доставки також представляє чималий інтерес для сучасної терапії інфекційних хвороб дихальних шляхів. Доведено, що доксициклін у вигляді аерозолу, зменшує викликане алергеном запалення та гіперреактивність, а також, інгібує розвиток ремоделювання бронхів у мишачої моделі астми шляхом модуляції продукції цитокінів та активності ММР [58].

Підсумувавши результати аналізу, можна зробити висновок – переважна більшість досліджуваних ЛФ доксицикліну передбачає парентеральний шлях уведення. Це пояснюється тим що, основним показником терапевтичної ефективності ЛЗ є його біодоступність. Вона залежить від способів доставки, які представлено у табл. 1.5.

Таблиця 1.5 – Основні шляхи доставки препаратів на основі доксицикліну

Шляхи доставки	
<i>Ентеральний</i>	<i>Парентеральний</i>
- оральний (порошок, таблетки, гранули, мікрокапсули, капсули, сироп, пародонтальна рідина, гель для субгінгвального застосування);	<i>В судини</i> - внутрішньовенний (порошок для приготування розчину для ін'єкцій, розчин для ін'єкцій, ліофілізат для приготування розчину для інфузій);
- вагінальний (песарії);	<i>На шкірно</i> - на шкіру (гель для зовнішнього застосування, емульсія); - в кон'юнктивальний мішок (очні краплі); <i>Інгаляційний (інгаляції).</i>

Отже, на фармацевтичному ринку України розміщено дуже обмежений асортимент ГЛЗ з доксицикліном. В основному антибіотик представлено у вигляді твердих форм – капсул та таблеток з негайним вивільненням діючої речовини. Тому пошук нових шляхів доставки ЛЗ на основі доксицикліну є перспективним напрямом фармацевтичної технології, а основна увага акцентується на розробці препаратів зі швидким досягненням максимальної біодоступності, наприклад, парентеральних ЛФ, зокрема ліофілізатів.

### **1.3 Біофармацевтичні аспекти створення парентеральних препаратів**

Біофармацевтичні дослідження ґрунтуються на визнанні терапевтичної значущості сукупності фармацевтичних чинників та розгляді ГЛЗ як складної фізико-хімічної системи, що являє собою комбінацію АФІ і біофармацевтичних факторів, таких як природа, хімічна модифікація, фізичні властивості АФІ, вплив допоміжних речовин, лікарська форми та технологія виробництва препарату.

***Вплив хімічної модифікації лікарських речовин.*** Суворі вимоги до нових ліків (наприклад, сприятлива фармакокінетика та оптимальні фармакодинамічні параметри) та бажання отримати високоефективні та безпечні молекули АФІ означають, що речовини-кандидати повинні пройти повне дослідження своїх окремих поліморфних та хіральных (енантіомерів/діастереомерів) форм, хімічних модифікатів, дисперсності на ранніх стадіях розробки препарату, зокрема у випадку хіральных молекул [31]. Різні форми (поліморфи, солі, співкристали) АФІ

можуть мати різні фізико-хімічні властивості, що в свою чергу критично впливає на біодоступність, розчинність, швидкість розпаду, початковий етап метаболізму, частоту побічних ефектів, стабільність, технологічні характеристики АФІ та ЛЗ.

Під терміном "хімічна модифікація" розуміють використання АФІ та допоміжних речовин у вигляді кислот, основ, солей та інших сполук, у яких повністю зберігається відповідальна за фармакологічний ефект частина молекули, наприклад, пеніциліни, альгінова кислота та її солі, новокаїн основний та у формі гідрохлориду. Заміна субстанцій при використанні у фармакотерапії здійснюється шляхом перерахунку на молекулярну масу або одиниці дії. З погляду офіційних стандартів така заміна правомірна і не повинна викликати заперечень, оскільки речовини мають аналогічну фармакологічну дію. Однак клінічне застосування різних простих модифікацій АФІ показує різні результати, зумовлені їх фармакокінетикою. Розглянемо це явище на прикладах.

Всі пеніциліни в основі молекул мають 6-амінопеніцилінову кислоту, що обумовлює антимікробний ефект, але в клінічному відношенні окремі пеніциліни відрізняються швидкістю і тривалістю антибактеріальної дії, ефективністю при різних шляхах введення, здатністю накопичуватися в різних органах і тканинах, а також активністю щодо різних мікроорганізмів [31].

Останніми роками фармацевтична промисловість демонструє тенденцію до застосування стратегії «хоральної заміни» з рацематів, які вже є на ринку та/або введення нових ліків у вигляді однієї енантіомерної форми. Цей підхід дозволив випустити на ринок багато ліків у певній стереохімічній конфігурації [41].

Коли не вдається знайти іншу відповідну тверду форму або молекула не іонізується, можна провести скринінг співкристалів. Співкристали – це кристали, в кристалічних ґратках яких зв'язані молекули АФІ з молекулами іншої речовини – «гостя». Така модифікація часто покращує розчинність співкристалу в порівнянні з «чистим» АФІ. Гості вибираються з широкого спектру джерел, таких як списки фармацевтично прийнятних і загальноновизнаних як безпечних (GRAS). Співкристали часто використовуються для очищення та стабілізації, а також поліпшення інтелектуальної власності. Співкристали, які є унікальними



кристалічними структурами, що містять декілька компонентів, відомі з 1844 року. Останнім часом було досягнуто прогресу в методах пошуку співкристалів та у відтворенні їх за допомогою стандартних умов кристалізації [82]. Д-р Скотт Чайлдс активно співпрацював з доктором Деном Макнамарою з Purdue Pharma над покращенням АФІ, біодоступність якого була неприйнятною [47]. Після скринінгу співкристалів двох субстанцій один з них був використаний для подальшої оцінки. Це дозволило досягти кращого профілю розчинення (рис. 1.8).

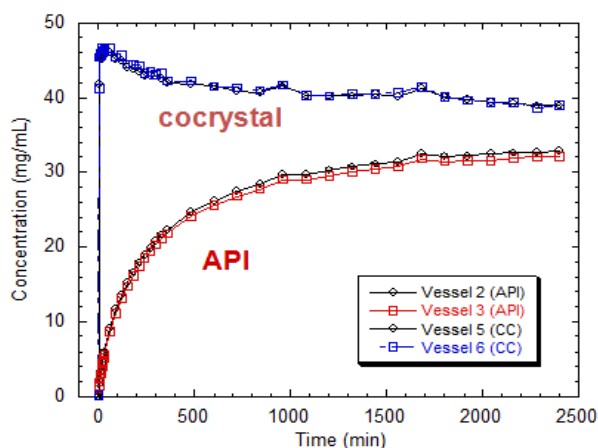


Рисунок 1.8 – Профілі розчинності «чистого» АФІ та його співкристалу [49].

Аморфні субстанції більш розчинні, ніж кристалічні, їх можна сформувати так, щоб вони були стабільними протягом усього терміну придатності ГЛЗ.

**Вплив фізичного стану діючих речовин.** Дисперсність – розмір частинок речовини, має не тільки технологічне значення (сипкість, насипний об'єм, однорідність змішування, точність дозування та ін.), але й істотно впливає на швидкість і повноту всмоктування. Ступінь подрібнення великою мірою визначає повноту абсорбції АФІ, особливо важкорозчинних сполук, де процес всмоктування зростає в міру зменшення розміру частинок. [37].

Відомо, що розчинність речовини залежить від розміру її частинок та площі поверхні: чим менший розмір частинок і чим більша сумарна поверхня, тим швидше речовина перейде в розчин і буде доступною для абсорбції.

Особливого значення мікронізація набуває у ін'єкційних розчинах у формі суспензій. Так, вибір ступеня мікронізації субстанції бетаметазону дипропіонат був одним з основних завдань досліджень, оскільки саме цей активний компонент

забезпечуватиме пролонгований ефект препарату та характеризуватиме розроблений генеричний препарат Бетаспан депо як біоеквівалентний оригінальному препарату Дипроспан. Ретельно дослідивши розмір і морфологію часток у референтному препараті, обрали виробника субстанції бетаметазону дипропіонат із необхідним рівнем мікронізації часток [12].

У ін'єкційних розчинах біотехнологічного походження біофармацевтичним аспектом є молекулярна маса. Досліджено, що молекули гіалуронату натрію відносно швидко руйнуються гіалуронідазами синовіальної рідини, тривалість дії ЛЗ відносно коротка, декілька місяців, та постійно потребує повторних внутрішньо-суглобових інекцій. Тому, для стабільності ін'єкційного розчину та пролонгації терапевтичного ефекту необхідно використовувати гіалуронат натрію з максимально можливою молекулярною масою, приблизно 1,5–2,5 Мда [78].

***Вплив допоміжних речовин.*** Важливим є і вибір ЛФ, розчини, зокрема з парентеральним шляхом доставки, вважаються найбільш ефективними, адже забезпечують 100% біодоступність та швидкий ефект. При цьому необхідно отримати істинний розчин АФІ, опираючись на дані про його розчинність.

Одним з найважливіших етапів розробки парентеральних ГЛЗ є підбір розчинника з оптимальними фізико-хімічними показниками (рН, склад, в'язкість) та допоміжних речовин для формування стабільної композиції (солюбілізаторів, комплексоутворювачів, співрозчинників, консервантів та антиоксидантів), які прямо впливають на біодоступність та швидкість вивільнення АФІ з ЛФ. Поширеним є використання поверхнево-активних речовин (ПАР) для поліпшення процесу розчинення.

Наукову перспективу має N-метилглюкамін (МГА) – органічна основа, яка використовується як регулюючий рН та солюбілізуючий засіб у парентеральних розчинах. Специфічною рисою МГА є здатність утворювати водорозчинні комплекси зі значною кількістю нерозчинних або мало розчинних АФІ, завдяки чому широке медичне застосування має ряд ЛЗ, що містять водорозчинні солі з МГА. Завдяки різноплановим функціональним можливостям меглюміну, його

введено до складу ін'єкційних розчинів рентгеноконтрастних речовин, нестероїдних протизапальних засобів, тощо [71].

Трометамол/трометамін (ТММ, ТНАМ, 2-аміно-2-гідроксиметил-пропан-1,3-діол, трис(гідроксиметил)амінометан) - органічний амінопротонний акцептор, добре розчинні у воді та водно-спиртових розчинах. Завдяки хімічній природі ТММ здатний до утворення добре розчинних у воді амонієвих солей та стійких комплексів з органічними і неорганічними аніонами, який за парентерального введення стає компонентом буферної системи організму та сприяє підвищенню лужності середовища. Хімічну модифікацію з ТММ для підвищення кристалічності та розчинності молекул у сольових формах успішно застосовують у ряді ЛЗ: Декскетопрофен трометамол, Dexketoprofen-trometamol, кеторолак трометамін, Ketorolac tromethamine, Lodoxamide Trometamol, Fosfomycine trometamol, Prinomide tromethamine, Tromethamol Glucaldrate та ін. [72].

**Вплив технологічного процесу.** Також з метою отримання істинного розчину застосовують окремі технологічні прийоми та операції (подрібнення, нагрівання, перемішування), які поліпшують характеристики напівпродукту. Вплив технології виробництва може мати вирішальне значення при отриманні розчинів чи ліофілізатів з важкозмочуваних, термолабільних або світлочутливих АФІ. На основі досліджень можна розробляти ГЛЗ із закладеним фармакологічним ефектом (синергізм, антагонізм, потенціювання, пролонгація, селективна дія) [34].

Дослідивши біофармацевтичні аспекти виготовлення парентеральних ЛФ, можна зробити висновок, що аналіз властивостей компонентів, хімічна модифікація лікарської речовини, підбір оптимального складу допоміжних речовин та технології виробництва мають вирішальний вплив на швидкість доставки та ступінь вивільнення АФІ.

Історична думка, що допоміжні речовини (ДопР) розглядалися як фармакологічно неактивні матеріали та індиферентні речовини, які не змінювали біологічну доступність лікарських засобів (ЛЗ), застаріла і набуває нового

біофармацевтичного розуміння впливу ДопР на розчинність, проникність, абсорбцію та метаболізм активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) [72].

#### **1.4 Особливості організації виробництва парентеральних ЛЗ**

З метою гарантії отримання високоякісних стерильних ГЛЗ при проектуванні фармацевтичного виробництва необхідно керуватись принципами та правилами Належної виробничої практики (GMP), викладеними у Настанові «Лікарські засоби. Належна виробнича практика», яка гармонізована з передовими регіональними і міжнародними Настановами ЄС та Всесвітньої організації охорони здоров'я (WHO).

GMP є невід'ємною складовою системи управління якості (СУЯ), яка гарантує виробництво і контроль ЛЗ за стандартами якості, що відповідають її призначенню, а також відповідно до вимог реєстраційного досьє, досьє ЛЗ для клінічних випробувань або специфікації на цю продукцію. [16].

У промисловому виробництві парентеральних лікарських засобів мають враховуватися насамперед стандарти ISO, настанови і вимоги належної виробничої практики – GMP-вимоги до стерильних препаратів, а саме: визначення точок, які стосуються мінімізації ризиків забруднення; мікробіологічні – пірогенні об'єкти; загальні вимоги до фармацевтичного виробництва – екологізація, повітряні шлюзи; стерильні матеріали, вимоги до персоналу; окремі зони для операцій: підготовка компонентів, підготовка продукту, заповнення, закупорювання, стерилізація і т. д.; рівень чистоти; фільтроване повітря; ламінарний потік повітря, швидкість потоку повітря, кількість змін повітря, проби повітря; відповідність стандартам; робочий майданчик і довкілля; технологія; бар'єри й автоматизовані системи [4].

Відповідно до GMP WHO виділяє **2 схеми організації технологічних процесів**, що відрізняються принципом забезпечення стерильності:

1) обов'язкова кінцева стерилізація в герметичній первинній упаковці (термічна, газова або радіаційна);

2) дотримання асептики на всіх стадіях або окремих операціях (використання стерильних вихідних речовин, матеріалів та стерилізуюча фільтрація для гарантування апірогенності та відсутності включень) [16].

Згідно ДФУ для виробництва парентеральних ЛЗ у *якості розчинника необхідно використовувати воду для ін'єкцій* «in bulk», що відповідає вимогам, які регламентовані статтею «Вода для ін'єкцій».

Особливо критичним є питання забезпечення стабільних показників якості, зокрема гарантування відсутності мікроорганізмів та пірогенів, контроль вмісту бактеріальних ендотоксинів. На даний момент найпоширенішим способом отримання води такого рівня чистоти є багатоступенева дистиляція, яка відзначається стабільно високими показниками надійності технологічних характеристик в процесі експлуатації, може валідуватись як окрема стадія та є офіційно прийнятою практикою. Воду для ін'єкцій «in bulk» отримують з води питної, яка контролюється за вимогами офіційно затверджених компетентним уповноваженим органом нормативних документів щодо якості води, призначеної для споживання людиною або з води очищеної шляхом дистиляції у апараті, деталі якого (ті, що контактують з водою) виготовлені з нейтрального скла, кварцу або підходячого металу, та який оснащений ефективним пристроєм для запобігання захвату крапель [5]. Важливим аспектом є раціональний підхід до експлуатації, якісне обслуговування та очищення спеціалізованого обладнання. На усіх етапах обігу проміжної продукції, від виробництва, зберігання, транспортування до застосування мають бути задіяні заходи щодо гарантії належного контролю та періодичного моніторингу загальної кількості здатних до існування бактерій-аеробів. Вода для ін'єкцій повинна відповідати критеріям прийнятності регламентованим для води очищеної, а також проходити випробування за показниками «Питома електропровідність» (ДФУ 2.2.38), «Загальний органічний вуглець» (ДФУ 2.2.44) та «Бактеріальних ендотоксини» (ДФУ 2.6.14), кількість яких має становити до 0,25 МО/мл [5, 22].

**Фільтрування парентеральних ЛЗ** здійснюється через систему фільтрів: патронний фільтр грубої очистки, фільтр попередньої очистки з розміром пор 0,45

мкм та мембранний фінішний стерилізуючий фільтр – 0,22 мкм. Стерилізуюча фільтрація є основним способом гарантування стерильності та апірогенності розчину напівпродукту для препаратів, котрі містять нестійкі термолабільні речовини і не можуть бути піддані фінішній стерилізації автоклавуванням.

Подача *стерильного повітря* у зонах класу А, В та С здійснюється за допомогою систем вентиляції та кондиціонування (HVAC), до складу яких входять фільтри грубої (волокнисті фільтри з розміром пор не менше 5 мкм), тонкої (кишенькові, складчасті, електростатичні фільтри з розміром пор 1-5 мкм) та високоефективної фінішної очистки (ЕРА, НЕРА, ULPA), котрі затримують частки менші 1 мкм. Перед експлуатацією системи HVAC мають пройти процедуру валідації, отримати дозвіл від компетентного уповноваженого органу та вносяться до матеріалів технологічного регламенту [42].

До умов середовища робочої зони висуваються окремі вимоги, регламентовані відповідно *до класу чистоти приміщень*: тиск повітря має становити близько 4 мм.рт.ст. при температурі  $23 \pm 2$  °С, а вологість в межах від 30 до 40% та може змінюватись залежно від специфічності процесу.

Також спостерігається перехід з асептичного наповнення до роботи в «автоматично-роботизованому» середовищі з метою покращення захисту продукту від контамінації мікроорганізмами, частками і пірогенами, а також захисту оператора та навколишнього середовища у разі роботи з сильнодіючими АФІ. Тенденція до кінцевої стерилізації у виробництві передбачає використання зони класу С поруч із лініями приготування та розливу, тоді як для дотримання умов асептики необхідно використовувати системи бар'єрів з обмеженим доступом (RABS) або ізолюючі технології. Ізолятори і оточуюче середовище проектується відповідно до якості повітря необхідної у певних робочих зонах. Поширеною є експлуатація герметизованих систем, які можуть включати обладнання для стерилізації [44].

Відповідно до принципів та правил GMP, конструкція *технологічного обладнання*, призначеного для виробництва ЛЗ, має звести до мінімуму ймовірність помилок і бути зручними для очищення, простими у обслуговуванні

та ремонті. Все обладнання та устаткування підлягають процедурам валідації та кваліфікації як невід'ємних елементів системи забезпечення якості (СЗЯ), а також інструментів, призначених для гарантії досягнення раціональної міри впевненості у відповідності виробничого процесу, обладнання, аналітичних методик контролю (АМК), виробничих систем стандартам GMP та своєму призначенню, що документально підтверджується та зберігається у вигляді звіту [16].

З 2019 року спостерігається тенденція до переходу від класичних видів *первинної упаковки* (флаконів, ампул) до однодозових автоматичних дозувальних пристроїв для самостійної доставки (PFS), оскільки вони забезпечують такі переваги, як менший ризик переповнення, безпечне та зручне використання, простота самостійного введення в домашніх умовах та нижча вартість ін'єкції порівняно з флаконами або ампулами [75, 81, 85].

В найближчі 5 років основну асортименту ГЛЗ у форматі PFS будуть представляти вакцини, що пояснюється пандемією COVID-19, та інсуліни, контроль застосування яких здійснюється через інтегровані мобільні додатки з інтелектуальним моніторингом здоров'я [69, 75].

Щодо контролю процесу, то методики та операції, пов'язані з виробництвом та контролем стерильної продукції, мають бути валідованими та верифікованими. Здійснюється *безперервний аналіз процесу* за рахунок відбору проб, найбільш поширеним є *контроль in-line*, що дозволяють отримати дані про препарат не видаляючи зразок проміжного продукту, наприклад, з реактора.

Зважаючи, що на фармацевтичному підприємстві можуть бути декілька розмірів серій у виробництві та велика кількість можливих варіантів фасування парентеральних розчинів, то проведення повної *валідації технологічного процесу* є досить складним і вимагає належного забезпечення процесу валідації необхідними ресурсами - спеціальним обладнанням, високо кваліфікованими спеціалістами та значними коштами на проведення дослідів. Оскільки у керівництвах різних регуляторних органів немає чітких рекомендацій щодо конкретних методів визначення та обґрунтування кількості промислових серій лікарських засобів, що мають декілька розмірів серій у виробництві та велику

кількість можливих варіантів дозування, то провідні керівництва з валідації технологічного процесу рекомендують підходи із застосуванням брекетингу у для зменшення обсягу випробувань, що базуються вибіркового дослідження виробництва лікарських засобів у контейнерах різних розмірів або різної повноти наповнення [77].

Таким чином, особливості організації виробництва стерильних парентеральних ЛЗ полягають у мінімізації ризиків забруднення та перехресної контамінації за рахунок обґрунтованого вибору схеми технологічного процесу (кінцева стерилізація у первинній упаковці або асептичне виробництво), застосуванні води для ін'єкцій у якості розчинника, виробництва ЛЗ у чистих приміщеннях визначеного класу чистоти, обов'язкової стадії фільтрування, валідації технологічного процесу з можливим застосуванням підходу «брекетингу».

### **1.5 Вимоги ДФУ до розчинів для парентерального застосування**

Вимоги щодо якості окремих ЛФ викладено в загальних статтях на ЛФ, розміщених у ДФУ та інших світових фармакопеях. В Україні основним правовим документом, котрий регламентує загальні вимоги, методики контролю ГЛЗ і конкретних субстанцій на законодавчому рівні є ДФУ [9].

Відповідно до загальної фармакопейної статті «Лікарські засоби для парентерального застосування», лікарські засоби для парентерального застосування – це стерильні лікарські засоби, призначені для введення шляхом ін'єкцій, інфузій або імплантацій, в організм людини або тварини [5].

Розчинами є ін'єкції та інфузії у формі ГЛЗ (істинні розчини, суспензії, емульсії) або отримані внаслідок змішування концентратів та порошків, в тому числі ліофілізованих, з відповідним стерильним розчинником.

Основні вимоги ДФУ до парентеральних розчинів представлено на рис. 1.9.





Рисунок 1.9 – Вимоги ДФУ до рідких лікарських засобів для парентерального застосування

На етапі фармацевтичної розробки парентеральних ЛФ має бути досягнута стабільність досліджуваної композиції, зокрема при формуванні складу термолабільних водних ЛЗ, що не містять протимікробного компоненту та призначені для багаторазового застосування, використовують антимікробні консерванти, концентрації яких мають бути достатніми, щоб гарантувати стійкість до контамінації та не перевищувати допустимі межі, встановлені на основі даних, отриманих при дослідженні стабільності і підтверджені результатами випробування «Ефективність антимікробних консервантів» (ДФУ 5.1.3). Умови зберігання препаратів у багатодозових контейнерах після першого використання мають бути регламентованими, а запобіжні заходи при застосуванні чітко прописуються.

Для деяких ЛФ визначено додаткові показники, так під час контролю проміжного та готового продукту у вигляді в'язкої рідини критичним параметром виступає густина (ДФУ 2.2.5), в емульсіях – відсутність розшарувань, у суспензіях – розмір часток (ДФУ 2.9.37), однорідність дозованих одиниць (ОДО, ДФУ 2.9.40) та вмісту однодозових контейнерів (ДФУ 2.9.6), прохідність через голку в шприц, час ресуспендування, седиментаційна стійкість, а в порошках – час розчинення, вода/втрата в масі при висушуванні (ДФУ 2.5.12 / ДФУ 2.2.32),

ОДО, однорідність вмісту або маси (ДФУ 2.9.5). В процесі контролю якості ЛЗ з необхідністю відновлення ЛФ застосовується розчин препарату у відповідному розчиннику із забезпеченням розведення, регламентованого в інструкції до застосування або окремій фармакопейній статті на ГЛЗ.

Важливою характеристикою парентеральних суспензій є відсутність процесу «злежування», тому ЛФ має швидко диспергувати при збовтуванні і залишатись стабільною протягом 5 хвилин [38].

При формуванні цільового профілю якості інфузійних препаратів значну увагу приділяють забезпеченню відповідності таких показників як осмоляльність, ізотонічність, ізоіонічність та ізогідричність стану фізіологічних рідин, тобто ЛФ повинна бути наближеною за вищевказаними параметрами до нативного біологічного матеріалу, а отже, при введенні до системного кровотоку великих об'ємів ЛЗ не впливати на тургор клітин для уникнення явища некрозу тканин, систем та окремих органів або суттєвих порушень гомеостазу.

Використання антимікробних консервантів та інших схильних до кумуляції речовин у виробництві внутрішньовенних інфузій недопустиме, тому стабілізація розчину досягається за рахунок ізотонуючих агентів (іони мікроелементів), регуляторів рН (ацетат, гідрофосфат та гідрокарбонат натрію), коректорів в'язкості (білкові речовини, ВМС), а також оптимального методу стерилізації. Осмотичність розчинів для інфузій має відповідати тиску крові і становити приблизно 725,2 кПа, в'язкість – від 0,0015 до 0,0016 Н·с/м<sup>2</sup>, а водневий показник (рН) перебувати в межах 7,36-7,47, тобто бути слабколужним або близьким до нейтрального [38].

На основі аналізу даних загальної фармакопейної статті та інформаційно-аналітичної документації узагальнено базовий перелік вимог до розчинів для парентерального застосування у формі ін'єкцій та визначено критерії прийнятності для конкретних показників якості (таблиця 1.6).

Таблиця 1.6 – Показники якості рідких лікарських форм для ін'єкцій

<b>Показник</b>	<b>Критерій прийнятності</b>	<b>Метод контролю</b>
Опис	Стерильні водні або масляні розчини, які містять одну/кілька	Візуальний

Показник	Критерій прийнятності	Метод контролю
	діючих речовин, призначені для введення шляхом ін'єкцій	
Прозорість	Прозорий	ДФУ 2.2.1
Кольоровість	Забарвлення не інтенсивнішим ніж у еталону	ДФУ 2.2.2
Ідентифікація	Ідентифікація діючої речовини та консерванту (при наявності)	Згідно МКЯ на конкретний ЛП
pH	Згідно СП на конкретний препарат	ДФУ 2.2.3
Густина (для окремих ЛЗ)	Згідно СП на конкретний препарат	ДФУ 2.2.5
Супровідні домішки	Контроль	Візуальний
Механічні включення А. Невидимі частинки Б. Видимі частинки	Практично вільний від невидимих часток* Не містить видимих механічних включень	ДФУ 2.9.19 ДФУ 2.9.20
Кількісне визначення А. Діючі речовини Б. Антимікробні консерванти (для багатодозових контейнерів)	95% - 105 % 90% - 110 %	Згідно МКЯ на конкретний ЛП
Стерильність	Стерильний	ДФУ 2.6.1
Бактеріальні ендотоксини / пірогени	Вміст ендотоксинів у повторностях розчину А менший ніж в ГЛЗ / апірогенний	ДФУ 2.6.14 ДФУ 2.6.8
Аномальна токсичність	Не спричиняє гибелі лабораторних тварин протягом 24 годин	ДФУ 2.6.9
Об'єм, що витягається	Не менше номінального об'єму	ДФУ 2.9.17

Примітка: \* запис «практично ...» в даному випадку означає визначення мінімально можливих значень показника або критеріїв прийнятності.

Отримані дані свідчать про те, що до якості парентеральних препаратів висуваються жорсткі вимоги. Це пояснюється значними ризиками, котрі виникають при маніпуляціях та терапії ін'єкційними ЛФ [1]. Тому, як виробництво, так і система забезпечення якості (СЗЯ) фармацевтичних підприємств повинні функціонувати належним чином у відповідності до

принципів та правил GMP, рекомендацій WHO, ISO, EMA та Директив ЄС для гарантованого отримання якісного, безпечного та ефективного ЛЗ.

### **1.6 Теоретичні аспекти процесу ліофілізації**

З метою подовження терміну придатності (мінімум до 2 років при температурі вище 0°C) чутливих до впливу температури, гідролітично нестійких та нестабільних субстанцій, носіїв для доставки ліків або ГЛЗ, (зокрема антибіотиків, вакцин, біоматеріалів, БАР) у фармації застосовують технологію ліофільного висушування [35, 64, 79].

*Ліофілізація* (ліофільна сушка, холодна сублімація) – це метод видалення води шляхом возгонки кристалів льоду із замороженого матеріалу. Відповідні характеристики технологічного процесу (вакуум, перехід з твердого стану в газ) дозволяють нам отримувати більш стабільну, порівняно з субстанціями висушеними традиційним способом, продукцію.

Незалежно від особливостей використання, сублімаційна сушка складається з 4-х основних етапів:

1. Попередня обробка;
2. Заморожування;
3. Первинна сушка (сублімація льоду);
4. Вторинна сушка (десорбція вологи) [36, 80].

Затвердіння, котре відбувається при зниженні температури, значно покращує стабільність речовин, які малостабільні у водних розчинах. Однак окремі стадії процесу сублімаційного сушіння (заморожування, первинне та вторинне сушіння) піддають субстанції різним стресам.

Наприклад, для захисту білків та супрамолекулярних систем доставки ліків застосовують дисахариди (сахарозу, трегалозу) та амінокислоти, які діють шляхом заміни міжмолекулярних взаємодій, що «активуються» диполями води. До композиції ліофілізованих ЛФ додають наповнювачі, розчинники (водні та неводні), солюбілізатори, кріопротектори, рН-регулятори, антимікробні

консерванти та антиоксиданти, що забезпечують збереження якісних характеристик і належних фармакокінетичних параметрів ГЛЗ [55, 84].

Ліофілізація є звичайним явищем, але вимагає великих витрат через багатоступінчатість та тривалість операцій і, отже, одним із ключових завдань при розробці процесу є мінімізація часу сушіння.

**Попередня обробка** охоплює будь-який метод «покращення» продукту перед заморожуванням (концентрація, розведення продукту, збільшення площі поверхні). У багатьох випадках рішення про попередню обробку ґрунтується на теоретичних знаннях про ліофілізацію або міркуваннями щодо якості продукту.

**Заморожування (попередня заморозка)** відбувається при досягненні температури нижче «евтектики» або безпечної точки замерзання. Зазвичай вона знаходиться в діапазоні від  $-40$  до  $-60^{\circ}\text{C}$ , в той час як деякі види речовин можуть досягати максимальної концентрації лише опускаючись від  $-60$  до  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Етап заморожування має першочергове значення, оскільки він визначає морфологію кристалів розчинника (льоду) та розподіл розмірів пор, що важливо для успіху пізніше в процесі. Заморожування продукту може призвести до раптового застигання рідини при певній температурі (евтектичній) або «склоутворення», коли розчинник не замерзає, а стає в'язким. Точка евтектики дорівнює потрійній точці продукт на фазовій діаграмі, на цьому етапі продукт заморожується в класичному розумінні. Для виявлення евтектичної точки проводять термічний аналіз з використанням методу кріоскопії, диференціальної скануючої колориметрії або кривої залежності часу від температури [56].

Після того, як температуру замерзання (евтектичну точку) продукту визначено, необхідно встановити оптимальну швидкість заморожування, котра визначає розмір кристалів. Режим заморожування впливає на швидкість первинної і вторинної сушки, площу поверхні, кристалізацію речовин, агрегацію, стабільність при зберіганні, здатність до відновлення, а також між- і внутрішньосерійну однорідність одиниць напівпродукту.

Заморожена рідина в кінцевому підсумку буде сублімуватися з продукту, більш розгалужена кристалічна структура, що утворюється при «повільному»

*заморожуванні*, призведе до формування більш пористого пластинчастого ГЛЗ, що швидко висихає. Це вигідно для оптимізації циклів ліофілізації, але може привести до регідратації (реконституції).

З іншого боку, *«швидке» заморожування* призведе до утворення менш стабільного з меншими розмірами кристалічної структури, що, призводить до того, що вона більше гранульований і тому його легше відновити, навіть якщо він довше висихає [67].

Відмінності у структурі розчину при різних режимах заморожування зображено на рис. 1.10.

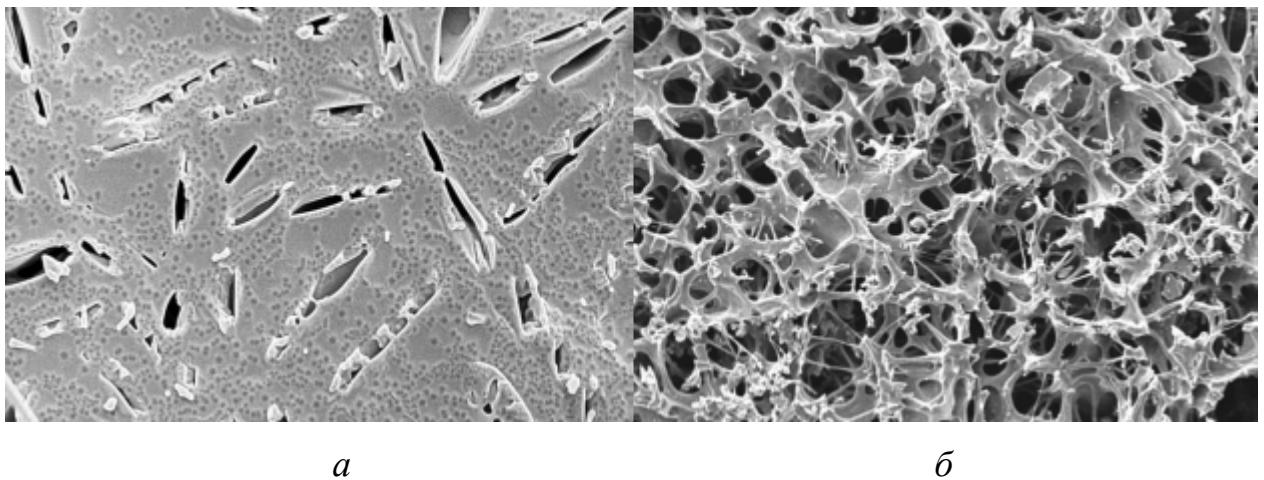


Рисунок 1.10 – Мікроскопія структури ліофілізату при «повільному» (а) та «швидкому» (б) режимах заморожування

Основним правилом заморожування продуктів у флаконах є те, що ємність не може бути заповнена більш ніж наполовину її загального обсягу.

Наступною є фаза *первинного сушіння* – період, коли лід сублімується під наднизьким тиском, як правило, вниз до 0,01 гПа (мБар) або нижче. Рушійною силою сублімації є різниця тисків, пов'язана з інтервалом температур між поверхнею ГЛЗ і конденсатора.

Вакуум прискорює процес видалення молекул повітря, щоб дозволити молекулам парів зразка легше переміщатися від зразка через камеру у конденсатор. Як правило, температура полиці під час збільшується від  $-40$  до  $+20^{\circ}\text{C}$  протягом тривалості процесу (від кількох годин до кількох днів). Важливо пам'ятати, що первинна сушка є делікатним етапом та займає найбільше часу і тому підлягає оптимізації [61].

Коли продукт досягає температури вище точки евтектики, зазвичай починається етап *вторинного сушіння* при низькому тиску з метою видалення розчинників (часто призводить до того, що продукт виглядає сухим). Розчинник, який видаляють під час цієї стадії десорбції згадується як «прив'язаний». Сума зв'язаної або залишкової води у продукті залежить від тривалості фази. Видалення контролюється й оптимізується шляхом збільшення температура полиці до допустимого максимуму (не вище 42°C), оскільки субстанції є термолабільними. Вакуум у цій точці дуже високий (низький тиск), молекули пари майже відсутні. Цей етап зазвичай становить менше половини повного циклу, але дуже важливий для кінцевої вологості зразка [70].

Для фармацевтичних зразків в у флаконах необхідний рівень вологості близький або нижче 1-3% (для забезпечення максимального терміну зберігання). Такого показника можна досягти лише за допомогою камер сублімаційного сушіння, оснащених стопорними пристроями для герметизації флаконів з гумовими пробками, які закриваються в умовах розрідження або шляхом вирівнювання вакууму в камері за допомогою інертного газу, як азот.

Вторинна сушка вважається завершеною, коли залишкова вологість в продукті досягає бажаного рівня. В цей момент флакони доукупорюються пробками всередині камери, камера аерується, і температура полиць підтримується на рівні близько 4°C до вивантаження флаконів [73].

Отже, ліофілізація є багатоступеневою технологією, кожен етап якої має свої критичні точки та потребує розуміння основ процесу і чіткого виконання усіх операцій для отримання гарантовано якісного ГЛЗ або субстанції.

### **Висновок до розділу 1**

1. Встановлено, що асортимент антибактеріальних препаратів системної дії представлено 974 найменуваннями. Серед зареєстрованої продукції українських заводів-виробників (34,0%) найбільший сегмент ринку належить препаратам виробництва ПАТ «Київмедпрепарат» і ПАТ «НВЦ «Борщагівський ХФЗ».

Препарати тетрациклінів займають 0,9% ринку, а доксициклін є найбільш вживаним представником даної групи.

2. Огляд наукової літератури показав, що основні напрямки розробки нових антибактеріальних препаратів ґрунтуються на поверненні до класичних АФІ зі збереженою активністю. Препарати доксицикліну представлені в основному у вигляді твердих лікарських форм – таблеток та капсул, а перспективним напрямом є отримання парентеральних ГЛЗ.

3. Встановлено, що аналіз властивостей компонентів, хімічна модифікація АФІ, підбір оптимального складу допоміжних речовин та технології виробництва мають вирішальний вплив на швидкість доставки лікарського засобу та ступінь вивільнення діючої речовини.

4. Особливості організації виробництва стерильних парентеральних ЛЗ полягають у мінімізації ризиків забруднення та перехресної контамінації за рахунок обґрунтованого вибору схеми технологічного процесу (кінцева стерилізація у первинній упаковці або асептичне виробництво), застосуванні води для ін'єкцій у якості розчинника, виробництва ЛЗ у чистих приміщеннях визначеного класу чистоти, обов'язкової стадії фільтрування, валідації технологічного процесу з можливим застосуванням підходу «брекетингу».

5. До якості парентеральних ЛЗ висуваються специфічні вимоги, регламентовані в загальних статтях на ЛФ та загальної монографії «Лікарські засоби для парентерального застосування», як стерильність, бактеріальні ендотоксини, ефективність антимікробних консервантів, рН, густина, прозорість, відсутність механічних домішок – видимих та невидимих.

6. Визначено, що ліофілізація є багатоступеневою технологією, кожен етап якої має свої критичні операції, від правильності виконання яких залежить стабільність та безпечність ГЛЗ або субстанції.



## РОЗДІЛ 2

### ФАРМАЦЕВТИЧНА РОЗРОБКА ЛІОФІЛІЗОВАНОГО ПОРОШКУ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ

#### 2.1 Фармацевтична розробка

Об'єктом фармацевтичної розробки є лікарський засіб Доксидикліну хіклат, ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій по 100 мг.

Так як в Україні відсутні зареєстровані ЛЗ у формі ліофілізованих порошків з хіклатом доксицикліну, то для обґрунтування складу вивчали світовий фармацевтичний ринок, формування матриці складу здійснювали з урахуванням рецептур лікарських засобів DOXY 100TM (Fresenius Kabi LLC, США) та Доксидиклін-Ферейн® (ВАТ «Бринцалов-А», Росія).

**Лікарська форма:** порошок ліофілізований для приготування розчину для ін'єкцій.

**Фармакологічна група:** антибіотики для системного застосування, тетрацикліни – код АТС J01A A02.

Препарати доксицикліну вимагають розведення при внутрішньовенному введенні, тому перед застосуванням у флакон ГЛЗ вноситься до 5-10 мл розчинника (відповідного розчину для інфузій) та, за допомогою шприца, переноситься до контейнера з тим же розчинником об'ємом 200 мл. Рекомендована тривалість введення (при концентрації розчину від 0,1 до 1 мг/мл) становить 1 годину.

Для приготування ЛФ можна використовувати наступні розчини для інфузій: фізіологічний розчин, 5% розчин декстрози, розчин Рінгера, Рінгера лактат та інші.

**Показання до застосування:** інфекційно-запальні захворювання, спричинені чутливими до доксицикліну мікроорганізмами, зокрема інфекції органів дихання, ШКТ, шкіри та м'яких тканин, сечостатевої системи, висипний тиф, бруцельоз, рикетсіози, остеомієліт, хламідіоз.

**Метою** фармацевтичної розробки є вибір оптимального складу допоміжних речовин для забезпечення стабільності ГЛЗ, покращення зовнішнього вигляду ЛФ

при удосконаленні технології виробництва за рахунок обробки розчину активованим вугіллям та дослідження еквівалентності антибактеріальної дії розробленого препарату та твердих желатинових капсул “Доксициклін-Дарниця” по 100 мг, виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця"», відносно бактерій-збудників інфекційних хвороб людини.

2.1.1 Діюча речовина. Фізико-хімічні властивості субстанції доксицикліну хіклату

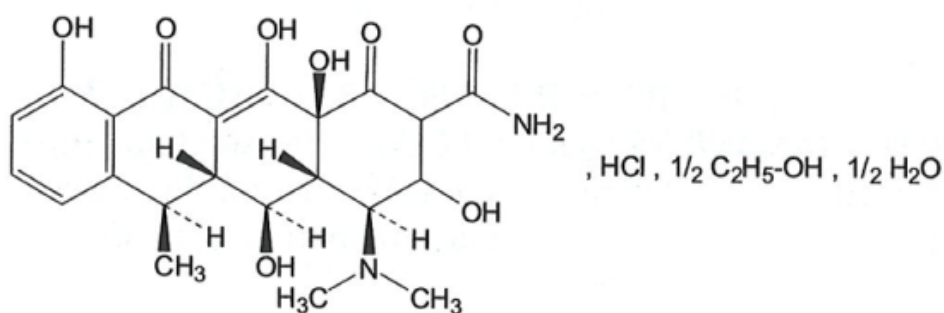
Розробку складу розчину для отримання ліофілізату здійснювали із використанням активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) доксицикліну хіклату (ДХ) виробництва Yangzhou Liberty Pharamceutical Co. Ltd.», Китай.

**European pharmacopoeia name:** Doxycycline Hyclate.

**Міжнародна непатентована назва:** Доксициклін.

**Хімічна назва:** Гідрохлорид геміетанол гемігідрат (4*S*,4*aR*,5*S*,5*aR*, 6*R*,12*aS*)-4-(диметиламіно)-3,5,10,12,12*a*-пентагідрокси-6-метил-1,11-діоксо-1,4,4*a*,5,5*a*, 6,11,12*a*-октагідротетрацен-2-карбоксамід.

**Структурна формула:**



**Брутто-формула:** C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>;

**CAS №:** 24390-14-5;

**Молекулярна формула:** (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), 1/2C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, 1/2H<sub>2</sub>O;

**Молекулярна маса:** 512.9 г/моль;

**CAS Number:** 24390-14-5.

**Ізомери:** 6-епідоксициклін, метациклін, 4-епідоксициклін, 4-епі-6-епідоксициклін, 2-ацетил-2-декарбамоїлдоксициклін, окситетрациклін;

**Поліморфізм:** відсутній;

**Фізико-хімічна характеристика речовини:** За зовнішнім виглядом АФІ є гігроскопічним кристалічним порошком жовтого кольору, який легко розчиняється у воді та метанолі, помірно розчинний у 96% етаноловому спирті, розчинах гідроксидів та карбонатів лужних металів [5]. Субстанція доксицикліну хіклату (гідрохлориду) описана в окремій монографії діючих видань ДФУ (ДФУ 2.2) та європейської фармакопеї (EP 10.0).

В табл. 2.1 наведено показники якості та критерії прийнятності для субстанції доксицикліну хіклату.

Таблиця 2.1 – Специфікація вхідного контролю доксицикліну хіклату [52]

№	Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
1.	Опис	Кристалічний порошок жовтого кольору. Гігроскопічний	Візуальний, за п. 1
2.	Розчинність	Легко розчинний у воді <i>P</i> , помірно розчинний у 96% етанолі <i>P</i> , розчиняється у розчинах гідроксидів та карбонатів лужних металів	Візуальний, EP*, 5.11, за п. 2
3.	Ідентифікація Доксицикліну хіклат  Хлориди	А. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння В. Реакція ідентифікації на субстанцію  С. Має витримувати випробування ідентифікації на хлориди	Рідинна хроматографія, EP*, 2.2.29, за п. 3, А  Реакція ідентифікації, EP*, за п. 3, В Реакція ідентифікації, EP*, 2.3.1, хлориди (а), за п. 3, С
4.	pH	Від 2,0 до 3,0	Потенціометрія, EP*, 2.2.3, за п. 4
5.	Питомий показник поглинання	Від 300 до 335, у перерахунку на безводну вільну від етанолу речовину	УФ-спектрофотометрія, EP*, 2.2.25, за п. 5

№	Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
6.	Питоме оптичне обертання	Від -120 до -105, у перерахунку на безводну вільну від етанолу речовину	Поляриметрія, ЕР*, 2.2.7, за п. 6
7.	Світлопоглинальні домішки	Оптична густина, виміряна за довжини хвилі 490 нм, має бути не більше 0.07 у перерах. на безводну вільну від етанолу	Спектрофотометрія у видимій області, ЕР, 2.2.25, за п. 7
8.	Супровідні домішки	6-епідоксициклін, метациклін: не більше 2.0% Окситетрациклін: не більше 0.5 % 4-епі-6-епідоксициклін: не більше 0.5% 4-епідоксициклін: не більше 0.5% Домішка F: не більше 0.5% Будь-яка інша домішка: не більше 0.5% Не нормуються: менше 0.1%	Рідинна хроматографія, ЕР*, 2.2.29, за п. 8
9.	Вода	Від 1,4 до 2,8%	Амперометричне титрування, ЕР*, 2.5.12, за п. 9
10.	Етанол	Від 4,3% до 6,0% (м/м)	Газова хроматографія, ЕР*, 2.2.28, за п. 10
11.	Важкі метали	Не більше 0.005% (50 ppm)	ЕР*, 2.4.8, метод С, за п. 11
12.	Сульфатна зола	Менше 0,4%	ЕР*, 2.4.14 за п. 12
13.	Кількісне визначення	Від 95,0 до 102,0% (в перерахунку на безводну та вільну від етанолу речовину)	Рідинна хроматографія, ЕР*, 2.2.29, за п. 13
14.	Бактеріальні ендотоксини	Не більше 1,14 МО/мг	ЕР*, 2.6.14, за п. 14
15.	Зберігання	У сухому, захищеному від світла місці при не вище 25 ° С	

Примітка: \* - діюче видання.

## Методи контролю

### Ідентифікація

А. Проводять методом рідинної хроматографії (ЕР, 2.2.29) одночасно з кількісним визначенням. Час утримання основного піку на хроматограмах

випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.

В. До близько 2 мг субстанції додають 5 мл *сірчаної кислоти P*, з'являється жовте забарвлення.

С. Тест на хлориди (EP, 2.3.1, Хлориди, реакція (а)).

*Розчин нітрату срібла P1*. Готують за EP4.1.1, наприклад, таким чином. 21±1 мг *нітрату срібла P* розчиняють у 0,5 мл *води P* та перемішують. Розчин готують безпосередньо перед використанням.

*Випробуваний розчин*. 29±1 мг випробуваної субстанції розчиняють у 2 мл *води P*, перемішують.

Випробуваний розчин підкислюють *кислотою азотною розведеною P*, додають 0,4 мл *розчину нітрату срібла P1*, перемішують і відстоюють. Повинен утворитися білий сирнистий осад. Центрифугують розчин та швидко промивають осад трьома порціями *води P* по 1 мл в захищеному від яскравого світла місці, при цьому допускається, щоб рідина над осадом не була прозорою. Суспендують осад у 2 мл *води P* і додають 1,5 мл *розчину аміаку P*. Осад повинен швидко розчинитися. Допускається повільне розчинення декількох крупних часток.

**pH** (EP, 2.2.3). Від 2,0 до 3,0. 0,1 г випробуваної субстанції розчиняють у 10 мл *води P*.

**Питомий показник поглинання** (EP, 2.2.25). Від 300 до 335.

*Розчинник*. Суміш 1 М *розчин кислоти хлористоводневої P* – *метанол P* у співвідношенні 1:99 (v/v).

25 мг випробуваної субстанції розчиняють у *розчиннику* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл. 1,0 мл одержаного розчину доводять *розчинником* до 100,0 мл. Вимірювання проводять не пізніше, ніж через 1 годину після приготування розчину.

Вимірюють оптичну густину випробуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 349 нм, в кюветі з товщиною шару 1 см, використовуючи як компенсаційний розчин *розчинник*.

Розраховують питомий показник поглинання за довжини хвилі 349 нм,  $A_{1cm}^{1\%}$ , у перерахунку на безводну і вільну від етанолу речовину, за формулою (2.1):

$$A_{1cm}^{1\%} = \frac{A \cdot 2300000}{m \cdot (100 - W - RS)} \quad (2.1)$$

де:

- $A$  - оптична густина випробуваного розчину;
- $m$  - маса наважки випробуваної субстанції, в міліграмах;
- $W$  - вміст води, визначений у випробуваній субстанції, в %;
- $RS$  - вміст етанолу та (за наявності) інших органічних розчинників у випробуваній субстанції паспортом/сертифікатом, в %.

**Питоме оптичне обертання** (EP, 2.2.7). Від -120 до -105, у перерахунку на безводну та вільну від етанолу речовину.

0,25 г субстанції розчиняють в суміші *1M розчин хлористоводневої кислоти* : *метанол P (1:99)* і доводять об'єм тією ж сумішшю розчинників до 25,0 мл. Визначення проводять не пізніше ніж через 5 хв після приготування розчину.

**Світлопоглинальні домішки** (EP, 2.2.25). Не більше 0,07, у перерахунку на безводну та вільну від етанолу речовину.

*Розчинник.* Суміш 1 M розчин *кислоти хлористоводневої P – метанол P* у співвідношенні 1:99 (v/v).

*Випробуваний розчин.* Близько 0,1 г випробуваної субстанції розчиняють у *розчиннику* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл. Вимірювання проводять не пізніше, ніж через 1 годину після приготування розчину.

Вимірюють оптичну густина випробуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 490 нм, в кюветі з товщиною шару 1 см, використовуючи як компенсаційний розчин *розчинник*.

**Супровідні домішки** (EP, 2.2.29). Проводять одночасно з кількісним визначенням.

**Вода** (EP, 2.5.12). Від 1,4 до 2,8%. Маса випробуваної субстанції для одного визначення близько 1,20 г (точна наважка).

**Етанол** (EP, 2.2.28). Від 4,3% до 6,0% (м/м). Проводять згідно з монографією EP «Доксицикліну хіклат», використовуючи *пропанол Р* як внутрішній стандарт.

**Важкі метали** (EP, 2.4.8 (метод С)). Не більше 0,005% (50 ppm). 0.5 г субстанції розчиняють у 25 мл води Р. Еталон готують із використанням 2.5 мл еталонного розчину свинцю (10 ppm Pb) Р.

**Сульфатна зола** (EP, 2.4.14). Не більше 0,4%. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

**Кількісне визначення** (EP, 2.2.29). Вміст доксицикліну гідрохлориду ( $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$ ) в субстанції, в перерахунку на безводну та вільну від етанолу речовину, має становити від 95,0% до 102,0%.

*Випробовуваний розчин.* 20.0 мг субстанції розчиняють у 0.01 М розчині хлористоводневої кислоти та доводять об'єм тим же розчинником до 25.0 мл.

*Розчин порівняння (а).* 20.0 мг ФСЗ доксициклінухіклату розчиняють у 0.01М розчині хлористоводневої кислоти та доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл.

*Розчин порівняння (b).* 20.0 мг ФСЗ 6-епідоксицикліну гідрохлориду (домішка А) розчиняють у 0.01 М розчині хлористоводневої кислоти та доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл.

*Розчин порівняння (с).* 20.0 мг ФСЗ метациклінугідрохлориду (домішка В) розчиняють у 0.01 М розчині хлористоводневої кислоти та доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл.

*Розчин порівняння (d).* Змішують 4.0 мл розчину порівняння (а), 1.5 мл розчину порівняння (b), 1.0 мл розчину порівняння (с) і доводять об'єм розчину 0.01 М розчином хлористоводневої кислоти до 25.0 мл.

*Розчин порівняння (e).* Змішують 2.0 мл розчину порівняння (b) і 2.0 мл розчину порівняння (с) і доводять об'єм розчину 0.01 М розчином хлористоводневої кислоти до 100.0 мл. *Домішки:* А. 6-епідоксициклін, В. метациклін, С. 4-епідоксициклін, D. 4,6-епідоксициклін, Е.окситетрациклін, F. 2-ацетил-2-декарбамоїлдоксициклін

Колонка:

- розмір: 0.25 м x 4.6 мм;
- нерухома фаза: *стиролу-дивінілбензолусополімер Р* (8 мкм);
- температура: 60 °С.

*Рухома фаза*: зважують 60.0 г *2-метил-2-пропанолу Р* і переносять у мірну колбу місткістю 1000 мл за допомогою 200 мл *води Р*, додають 400 мл *буферного розчину рН 8.0 Р*, 50 мл розчину 10 г/л *тетрабутиламонію гідросульфату Р*, рН якого попередньо доводять до 8.0 *натрію гідроксиду розчином розведеним Р*, і 10 мл розчину 40 г/л *натрію едетату Р*, якого попередньо доводять до 8.0 *натрію гідроксиду розчином розведеним Р*. Одержаний розчин доводять *водою Р* до об'єму 1000.0 мл.

*Швидкість рухомої фази*: 1.0 мл/хв.

*Детектування*: спектрофотометрично за довжини хвилі 254 нм.

*Інжекції*: 20 мкл. Вводять випробовуваний і розчин порівняння (а).

*Відносні утримування до доксицикліну* (час утримування доксицикліну - близько 17 хв): домішки Е - близько 0.2; домішки D - близько 0.3; домішки С - близько 0.5; домішки В – близько 0.8; домішки А - близько 0.85; домішки F - близько 1.2.

*Придатність хроматографічної системи*: розчин порівняння (d):

- *ступінь розділення*: не менше 1.25 між піками домішок В (1<sup>ий</sup> пік) і (2<sup>ий</sup> пік) і не менше 2.0 між піками домішки А та доксицикліну (3<sup>ий</sup> пік). Якщо необхідно, регулюють вміст 2-метил-2-пропанолу в рухомій фазі;

- *коефіцієнт симетрії*: не більше 1.25 для піка доксицикліну.

Вміст  $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$  (М.м. 480.9) обчислюють, у відсотках, із площ піків і вмісту  $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$  у ФСЗ доксицикліну.

**Бактеріальні ендотоксини** (ЕР, 2.6.14). Не більше 1,14 МО/мг, якщо субстанція не буде піддана очистці від бактеріальних ендотоксинів [5].

Отже, розробку складу парентерального ГЛЗ у формі ліофілізованого порошку проведено при використанні АФІ доксицикліну хіклату, котрий відповідає за показниками якості критеріям прийнятності, регламентованим



монографією діючого видання ДФУ 2.2 та гармонізованим з вимогами світових Фармакопей, зокрема ЕР 10.0.

### 2.1.2 Допоміжні речовини

Для забезпечення стабільності ліофілізованого порошку до складу композиції додано часто використовувані допоміжні речовини: натрію сульфід, динатрію едетат та воду для ін'єкцій.

В табл. 2.2 представлено перелік допоміжних речовин у композиції ліофілізату на основі доксицикліну хіклату (по 100 мг у флаконі).

Таблиця 2.2 – Допоміжні речовини у складі ліофілізату для приготування ін'єкцій

Найменування допоміжної речовини	Функціональне призначення	Відповідність фармакопейній статті
Натрію сульфід	Стабілізатор, антиоксидант	ДФУ, ЕР*
Динатрію едетата (Трилон Б)	Антиоксидант, стабілізатор, комплексоутворювач	ДФУ, ЕР*
Вода для ін'єкцій	Розчинник	ДФУ, ЕР*

Примітка: \* - діючі видання Фармакопей.

Субстанція доксицикліну та допоміжні речовини легко розчиняються у воді та залишаються стабільними протягом тривалого проміжку часу.

Встановлено, що допоміжні речовини, використані при розробці ЛФ витримують випробування за показниками якості, наведеними у статтях чинних видань ДФУ та ЕР. Використання вищевказаних допоміжних речовин є класичним прийомом у виробництві парентеральних ГЛЗ, у тому числі ліофілізованих порошків [60]. АФІ і допоміжні речовини є сумісними, не утворюють побічних продуктів при комбінуванні, що може викликати токсичність, погіршити якість антибіотика або зменшити терапевтичний ефект.

## 2.2 Розробка складу ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом

Основним завданням розробки парентерального ГЛЗ був вибір підхожих допоміжних речовин та визначення оптимального співвідношення компонентів рецептури для ліофілізату з доксицикліну хіклатом, адже від цього залежить величина водневого показника та особливості його поведінки в організмі людини.

Оскільки в Україні відсутні зареєстровані лікарські засоби у формі ліофілізованих порошків на основі доксицикліну, то для обґрунтування оптимального складу вивчали літературні дані про комерційні препарати на ринку та при формуванні матриць складів аналізували ЛЗ DOXY 100TM (Fresenius Kabi LLC, США) та Доксициклін-Ферейн® (ВАТ «Бринцалов-А», Росія).

Для формування композиції ЛФ застосовано наступні допоміжні речовини: натрію метабісульфіт («Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH», Німеччина), трилон Б («Kirsch Pharma GmbH», Німеччина), калію метабісульфіт («Shandong Fousi Chemical Co., Ltd.», Китай), натрію сульфат («BASF Societas Europaea», Німеччина), натрію гідросульфат («Zhengzhou San Techchem Co., Ltd.», Китай), магнію хлорид тетрагідрат («Weifang Xinchang Chemical» Co., Ltd.», Китай), магнію сульфат безводний («Laizhou Guangcheng Chemical Co., Ltd.», Китай), натрію дигідрофосфат («Hebei Import & Export Trading Co., Ltd.», Китай), кислота аскорбінова («United Pharma Industries Co., Ltd.», Китай), вода для ін'єкцій.

При розробці складу препарату враховували, що водний розчин доксицикліну є рН-залежним і має тенденцію до зміни показника рН при тривалому зберіганні. Представлені на ринку комерційні ГЛЗ мають у своєму складі антиоксидант і/або манітол в якості середовища для висушування та стабілізації, тому в межах наукового пошуку до композиції було введено допоміжні речовини – стабілізатори та регулятори рН, які забезпечують буферні властивості та стабільність розчину.

Так, натрію дигідрофосфат використаний з метою регулювання рН. Для підвищення стабільності водних розчинів досліджено ряд допоміжних речовин: метабісульфіт калію, сульфат натрію, гідросульфат натрію, кислоту аскорбінову та ін., які виконують функції прямих антиоксидантів; магнію хлорид і сульфат включені до складу з метою стабілізації (утворення хелатів магнію-доксицикліну).

Дослідні серії зразків отримували при застосуванні обладнання: промислова ліофільна сушарка GLZY-15B (Shanghai Pudong Freeze Drying Equipment Co., Ltd., Китай) в умовах фармацевтичного підприємства, стерильний шприцевий фільтр з

мікропористою мембраною 0,45 мкм, мембранні фільтри з розміром пор 0,22 мкм, лабораторна установка для стерилізуючої фільтрації (Sartorius, Німеччина).

Оцінку результатів експерименту з вибору оптимального складу ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату проведено візуальним методом (опис, час розчинення, прозорість), ваговим методом (ОДО), фізико-хімічними методами (вода, рН), спектрофотометричним методом (кольоровість), мікробіологічним методом (стерильність) [5, 7].

Кількісний вміст доксицикліну хіклату визначали методом високоефективної *рідинної хроматографії* (ДФУ, 2.2.29) з використанням рідинного хроматографу Waters Alliance, США [7].

Якісний та кількісний склад експериментальних зразків ліофілізованих порошків і препаратів порівняння наведені в табл. 2.3.

Таблиця 2.3 – Якісний і кількісний склад експериментальних зразків ліофілізатів і препаратів порівняння

Компоненти	DOXY 100™	Доксициклін-Ферейн®	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
Доксицикліну хіклат	115 мг	115 мг	115 мг	115 мг	115 мг	115 мг
(у перерахунку на доксициклін)	100 мг	100 мг	100 мг	100 мг	100 мг	100 мг
Натрію метабісульфіт	-	6 мг	-	-	-	-
Трилон Б	-	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг
Манітол	300 мг	-	-	-	-	-
Калію метабісульфіт	-	-	6 мг	-	-	-
Натрію сульфат	-	-	-	6 мг	-	-
Натрію гідросульфат	-	-	-	-	6 мг	-
Магнію хлорид тетрагідрат	-	-	136 мг	-	-	120 мг
Магнію сульфат безводний	-	-	-	-	97 мг	-
Дигідрофосфат натрію	-	-	105 мг	-	36 мг	83 мг
Кислота	480 мг	-	-	-	-	150 мг

Компоненти	DOXY 100 <sup>TM</sup>	Доксициклін- Ферейн®	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
аскорбінова						
Вода для ін'єкцій	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл

Отримані дослідні розчини за фізико-хімічними властивостями представляли собою прозорі розчини жовтого кольору з рН в межах від 1,8 до 3,3. Оскільки розчини мають інтенсивне забарвлення, що є змінним фактором при тривалому зберіганні, то для досягнення однорідності й інтенсивності кольору ліофілізованого порошку було застосовано обробку активованим вугіллям та досліджено його вплив на отримані показники якості [76].

До приготованих розчинів додавали 0,25 г подрібненого активованого вугілля і перемішували протягом 15 хв, після чого залишали на півгодини (в процесі адсорбції в зразку №2 спостерігалось утворення бульбашок). Очистку від сорбенту здійснювали за допомогою шприцевих мембранних фільтрів з розміром пор 0,45 мкм. Отримані розчини оцінювали відповідно до методик «Визначення ступеня забарвленості рідин (ДФУ, 2.2.2.)» і «Оптична густина (ДФУ, 2.2.25)» [54]. Потім розфасували в скляні флакони R6 (по 1,6 мл), укупорили гумовими пробками для ліофілізації та завантажили на полиці камери ліофільної установки.

Програма ліофілізації складалась з наступних стадій:

Охолодження. Температуру камери опускали до рівня не вище  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  і витримували 5 год. За 45-75 хв. до початку сушки встановлювали вакуум на рівні 7-8,5 Па. Після зниження тиску до рівня менше 10 Па вмикали активний підігрів.

Первинне висушування. Протягом 1 години полиці нагрівали до температури  $-18\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , вимикали активний підігрів і витримували ліофілізат при цій температурі до повного висушування вільного льда близько 25 годин. Завершенням процесу видалення вільного льду вважали момент досягнення однакової температури продукту, максимально близької до температури полиць ( $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для досягнення однорідного висушування всієї серії ЛЗ з доксицикліну хіклатом температура підтримувалася на заданому рівні до кінця етапу (180-300) хв. при веденні постійного моніторингу вакууму на рівні до 13 Па. Потім

температуру збільшували до  $26 \pm 1$  °C і витримували близько 14 годин. Для підвищення однорідності сушки на показнику термометра  $-5$  °C здійснили запрограмовану зупинку нагрівання на 1 год.

Вторинне висушування. Препарат витримували до 6 годин при температурі  $26 \pm 1$  °C. Процес ліофілізації вважається завершеним, якщо матеріал на всіх полицях залишився стабільним протягом 2 годин. Через стерильний повітряний фільтр з розміром пор  $0,2$  мкм в камеру ліофільної сушарки подавали стиснений азот під тиском до 300 Па і закупорювали флакони шляхом опускання плити.

На рис. 2.1 представлено зовнішній вигляд зразків №1-3 приготованих розчинів, з (а) та без стадії обробки (б) активованим вугіллям.

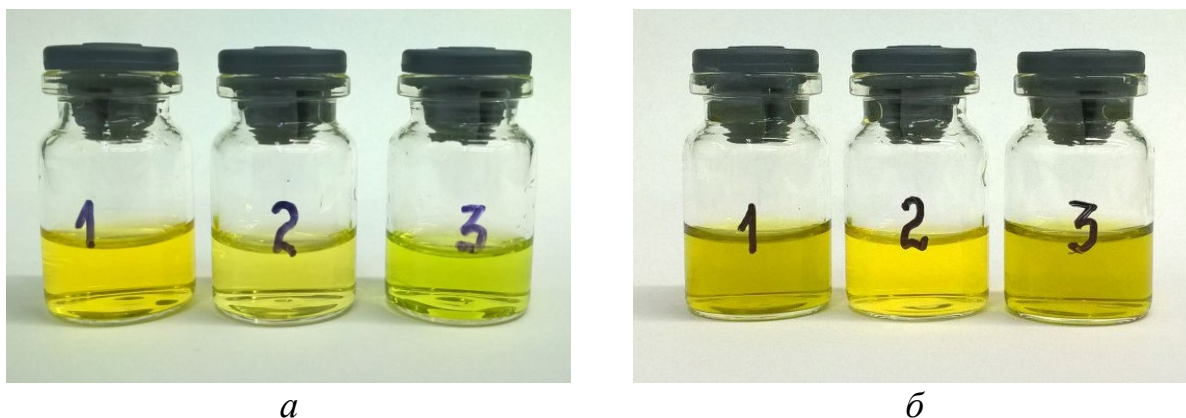


Рисунок 2.1 – Приготовані розчини препарату до (а) та після (б) обробки активованим вугіллям

Після завершення циклу ліофілізації були отримані експериментальні серії ліофілізованих порошків (рис. 2.2).

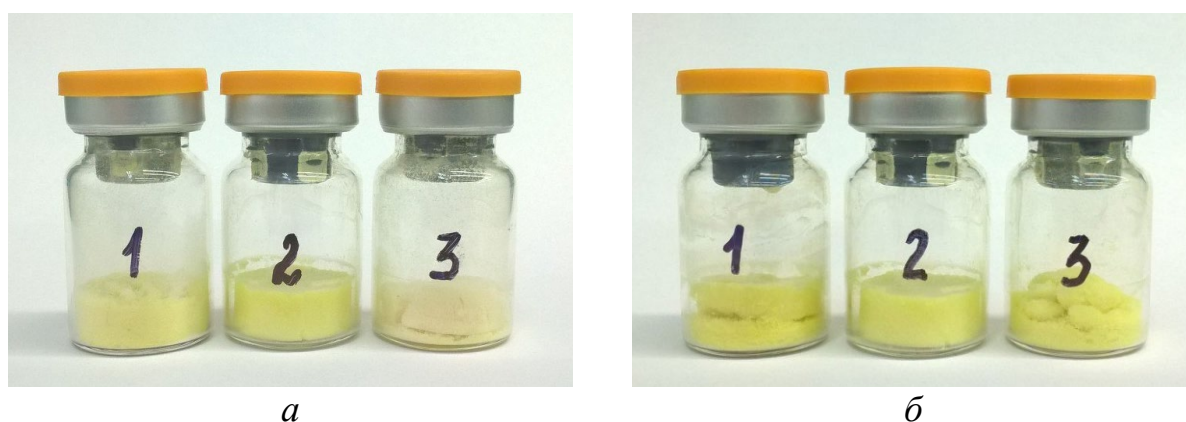


Рисунок 2.2 – Ліофілізовані порошки, отримані з обробленого (а) та необробленого (б) активованим вугіллям розчину доксицикліну

Результати порівняльного дослідження кольоровості розчинів стандарту і експериментальних зразків, необроблених (I) і оброблених активованим вугіллям (II), представлені в табл. 2.4 і 2.5.

Таблиця 2.4 – Оцінка кольоровості розчинів експериментальних зразків до та після витримання при температурі 40 °С протягом 24 годин

Дослідні зразки		Допустимі межі	Кольоровість розчину	
			Після приготування	Після витримки при 40 °С протягом 24 годин
Зразок 1	I	Кольоровість розчину має бути не інтенсивніше ніж еталон Y <sub>3</sub>	Не відповідає (Y <sub>2</sub> )	Не відповідає (B <sub>2</sub> )
	II		Відповідає (Y <sub>3</sub> )	Не відповідає (B <sub>3</sub> )
Зразок 2	I		Відповідає (Y <sub>3</sub> )	Не відповідає (GY <sub>3</sub> )
	II		Відповідає (Y <sub>4</sub> )	Відповідає (Y <sub>3</sub> )
Зразок 3	I		Не відповідає (Y <sub>2</sub> )	Не відповідає (B <sub>2</sub> )
	II		Не відповідає (GY <sub>3</sub> )	Не відповідає (B <sub>3</sub> )
Зразок 4	I		Не відповідає (B <sub>4</sub> )	Не відповідає (B <sub>2</sub> )
	II		Відповідає (Y <sub>4</sub> )	Не відповідає (B <sub>4</sub> )

Зовнішній вигляд розчинів зразків №1-3 після витримання при температурі 40 °С протягом 24 годин представлено на рис. 2.3.

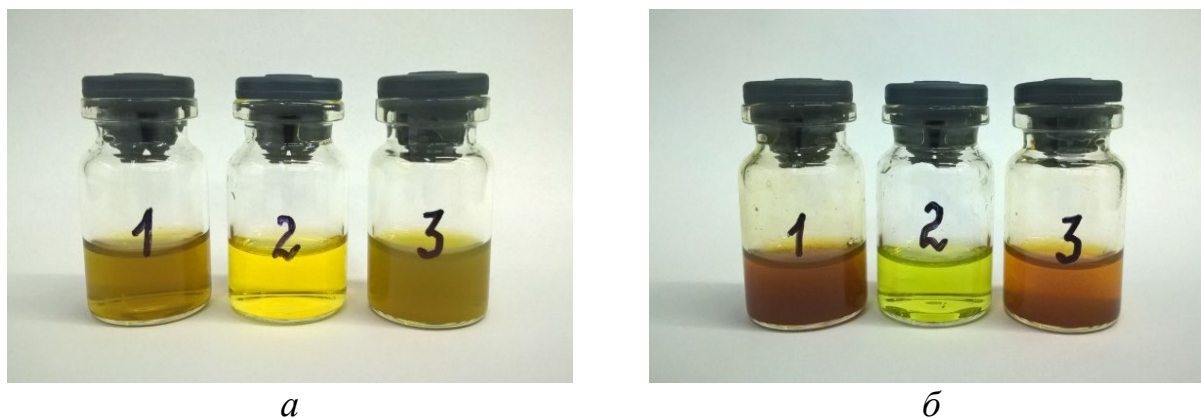


Рисунок 2.3 – Дослідні розчини, оброблені (а) та необроблені (б) активованим вугіллям, після витримання при температурі 40 °С протягом 24 годин

Таблиця 2.5 – Порівняльні дослідження оптичної густини експериментальних зразків до і після витримки при температурі 40 °С протягом 24 годин

Дослідні зразки		Допустимі межі	Оптична густина розчинів	
			Після приготування	Після витримки при 40 °С протягом 24 годин
Зразок 1	I	Оптична густина має становити не	0,09 (не відповідає)	0,27 (не відповідає)
	II		0,07 (відповідає)	0,20 (не відповідає)
Зразок 2	I		0,06 (відповідає)	0,10 (не відповідає)

Дослідні зразки		Допустимі межі	Оптична густина розчинів	
			Після приготування	Після витримки при 40 °С протягом 24 годин
Зразок 3	II	більше 0,07 при довжині хвилі 490 нм	0,04 (відповідає)	0,06 (відповідає)
	I		0,08 (не відповідає)	0,25 (не відповідає)
II	0,10 (не відповідає)		0,19 (не відповідає)	
Зразок 4	I		0,17 (не відповідає)	0,24 (не відповідає)
	II	0,05 (відповідає)	0,15 (не відповідає)	

Як видно з отриманих результатів, застосування стадії обробки сорбентом для знебарвлення значно покращує зовнішній вигляд ЛФ та дозволяє отримати висвітлений продукт стандартного кольору.

Оцінку показників якості досліджуваних зразків ліофілізату з доксицикліну хіклатом наведено в табл. 2.6.

Таблиця 2.6 – Порівняльна характеристика показників якості досліджуваних зразків ліофілізованих порошків

Показники якості	Допустимі межі	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
Опис	Суша пориста маса світло-жовтого кольору	Суша пориста маса світло-жовтого кольору, дуже крихка (не відпов.)	Суша пориста маса світло-жовтого кольору, однорідна (відпов.)	Суша пориста маса кремового кольору, наявні сколи (не відпов.)	Суша пориста маса жовтого кольору (не відпов.)
Прозорість	Прозорий порівняно з водою <i>P</i>	Прозорий (відпов.)	Прозорий (відпов.)	Наявна каламуть (не відпов.)	Наявні каламуть і піна (не відпов.)
Кольоровість	Забарвлення не інтенсивніше еталону $Y_3$	$Y_3$ (відпов.)	$Y_4$ (відпов.)	$GY_3$ (не відпов.)	$Y_4$ (відпов.)
pH	Від 1,8 до 3,3	$2,95 \pm 0,04$	$2,37 \pm 0,04$	$3,21 \pm 0,04$	$3,27 \pm 0,04$
Час розчинення	Легко розчинний в 1 мл за 1 хв	16 сек (відпов.)	12 сек (відпов.)	19 сек (відпов.)	15 сек (відпов.)
Вода	Не більше 3,0%	$2,8 \pm 0,02$ (відпов.)	$1,8 \pm 0,02$ (відпов.)	$2,5 \pm 0,02$ (відпов.)	$2,8 \pm 0,02$ (відпов.)
Кількісний вміст АФІ	Від 95,0 до 105,0 мг/мл	$104,1 \pm 0,01$ (відпов.)	$103,0 \pm 0,01$ (відпов.)	$100,8 \pm 0,01$ (відпов.)	$101,9 \pm 0,01$ (відпов.)
Вміст сухих речовин	Не більше 13%	$36,2 \pm 0,04$ (не відпов.)	$12,1 \pm 0,04$ (відпов.)	$25,4 \pm 0,04$ (не відпов.)	$79,0 \pm 0,04$ (не відпов.)
ОДО	Для 10 одиниць ЛЗ приймальне число $L_1 < 5,0$	$6,6 < L_1$ (відпов.)	$1,7 < L_1$ (відпов.)	$16,0 < L_2$ (відпов.)	$5,4 < L_1$ (відпов.)

Показники якості	Допустимі межі	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
Стерильність	Стерильний	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає

На підставі отриманих даних встановлено, що досліджувані зразки №1 і №3, незважаючи на достатній залишок сухих речовин, мають дуже крихку суху пористу структуру, яка руйнується при докладанні сили і може утворювати сколи при струшуванні та/або транспортуванні ГЛЗ. Збільшення частки сухих речовин у складі зразків не забезпечує отримання швидко сформованої пористої маси, що веде за собою необхідність підбору оптимальних режимів заморозки і сушіння, а також удосконалення рецептури для забезпечення стійкості якісних характеристик ЛЗ протягом терміну придатності.

Дослідний зразок №4 має більш стійку до струшування пористу масу, але при розчиненні спостерігалось піноутворення, що може впливати на повноту дозування при наборі в шприц.

Дослідний зразок №2 характеризується добре сформованою пористою масою без сколів, зламів і тріщин ліофільної «таблетки», має стійкість до струшування пористої маси, відсутність піноутворення при розчиненні та стабільність показника «Кольоровість» при дослідженні стабільності (прискорений режим зберігання).

Тому для подальших досліджень обрано склад №2. Діючу речовину доксицикліну хіклат введено до складу ліофілізату для приготування ін'єкцій в концентрації 100 мг в 1,6 мл (в перерахунку на 100% суху речовину). У якості стабілізатора застосовано натрію сульфід, його концентрація становить 0,375 мг/мл. Трилон Б виконує роль антиоксиданту та комплексоутворювача, він зв'язує іони заліза та міді, які знаходяться у воді для ін'єкцій або потрапляють у неї під час виробництва з обладнання та сировини. Визначено, що необхідна кількість трилону Б становить 0,0125 мг/мл. В якості розчинника використовували воду для ін'єкцій.

Отриманий ліофілізат за зовнішнім виглядом стабільна пористоста маса однорідного світло-жовтого кольору, що відповідає вимогам ДФУ за регламентованими для парентеральних ГЛЗ показниками.



### 2.3 Розробка виробничого процесу

У даному пункті перераховано обладнання виробничої дільниці, рецептуру на 1 флакон ГЛЗ та опис технології приготування ліофілизованого порошку на основі хіклату доксицикліну.

Ліофілізат для приготування ін'єкцій доксицикліну хіклату по 100 мг у флаконі є стабільною однорідною пористою масою світло-жовтого кольору, отриманою шляхом ліофілізації істинного розчину. Технологія виробництва ГЛЗ розроблена з урахуванням характеристик усіх компонентів композиції [68].

Зважують необхідну кількість компонентів на серію ЛЗ, здійснюючи розрахунок за рецептурою наведеною у табл. 2.7.

Таблиця 2.7 – Якісний та кількісний склад ліофілизованого порошку з доксицикліну хіклатом

Назва діючих і допоміжних речовин	Кількісний вміст на 1 мл	Призначення	Стандарт, що регламентує якість
<i>Активної діюча речовина</i>			
Доксициклін (у формі хіклату)	100 мг	діюча речовина	МКЯ згідно СП вхідного контролю, EP*
<i>Допоміжна речовина</i>			
Динатрію едетат (трилон Б)	0,02 мг	Антиоксидант, стабілізатор, комплексоутворювач	EP*, СП вхідного контролю
Натрію сульфат	0,6 мг	Стабілізатор, антиоксидант	EP*, СП вхідного контролю
Вода для ін'єкцій	до 1 мл	Розчинник	EP*, СП вхідного контролю

Примітка: \* - контроль за вимогами діючих видань Фармакопеї [53].

В реактор завантажують воду для ін'єкцій і, при перемішуванні, додають розрахункові кількості динатрію едетату та натрію сульфату. Перемішують 10-15 хв. до повного розчинення компонентів, після чого додають хіклат доксицикліну та продовжують перемішувати 30 хв. до однорідності. Для міжопераційного контролю відбирають пробу проміжного продукту (розчину для ліофілізації).

При позитивному результаті аналізу до розчину додають подрібненого активоване вугілля, перемішують та залишають на 30-45 хв., після чого

переходять до стадії фільтрування для грубої очистки та попередньої фільтрації (діаметр пор фільтрів 3,00 мкм і 0,45 мкм відповідно).

Відфільтрований розчин за допомогою стисненого повітря витискають на автоматичну лінію розливу і передупорки флаконів, там рідину піддають стерилізуючій фільтрації через 2 послідовно розміщені фільтри з діаметром пор 0,2 мкм і дозують в асептичних умовах в стерильні скляні флакони типу R-10. Дозу регулюють автоматичним дозувальним пристроєм і періодично контролюють протягом процесу. Наповнені флакони передупорюють гумовими стерильними пробками типу 20-D4 та завантажують в ліофільну установку, встановлюють режим. Після закінчення сушки флакони доупорюють опусканням плити та відвантажують для вальцювання алюмінієвими ковпачками до роторної закатної машини. Перевіряють якість затиску (візуально) та герметичність, після інспекції механічних включень та герметичності здійснюють контроль проміжного продукту згідно МКЯ.

При отриманні позитивних результатів флакони маркують на машині для етикетування. Промарковану продукцію упаковують у вторинну упаковку, групову тару та передають у приміщення карантинного зберігання. Контроль ГЛЗ здійснюють за всіма показниками СП для контролю якості готового продукту.

Особливістю процесу є застосування прийому обробки сорбентом на стадії приготування розчину та технології ліофільного висушування антибіотиків.

У табл. 2.8 наведено критичні точки технологічного процесу виробництва ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом.

Таблиця 2.8 – Критичні параметри технологічного процесу виробництва ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом

№ з/п	Стадія технологічного процесу	Критичний параметр	Метод контролю
1	Зважування вихідних компонентів	Вода для ін'єкцій, наважки доксицикліну хілату, натрію сульфату, динатрію едетату	Об'ємний Ваговий
2	Приготування розчину	Порядок внесення Режим роботи мішалки	Візуальний Автоматичний

№ з/п	Стадія технологічного процесу	Критичний параметр	Метод контролю
		Температура Час Повнота розчинення, однорідність рН розчину	Візуальний Хронометричний Візуальний Потенціометричний
3	Фільтрація розчину	Температура розчину Тиск фільтрації Цілісність фільтрів Рейтинг та матеріал мембрани	Хронометричний Автоматичний Візуальний Документальний
4	Стерильна фільтрація розчину	Тиск Контроль проміжного продукту	Автоматичний Візуальний
5	Наповнення та передупорка	Доза наповнення Якість передупорки	Ваговий Автоматичний
6	Ліофілізація та доупорка флаконів гумовими пробками	Час Режим заморожування та сушки Залишкова вода у ліофілізаті Якість упорки	Хронометричний Автоматичний  Потенціометричний  Візуальний
7	Завальцювання ковпачками	Якість вальцювання Герметичність	Візуальний Автоматичний
8	Механічні включення та інші види браку	Механічні включення	Автоматичний
9	Маркування та пакування	Якість друку, Правильність маркування Комплектність	Візуальний Документальний Візуальний

Таким чином, встановлено критичні параметри технології виготовлення ліофілізату для приготування ін'єкцій по 100 мг доксицикліну хіклату та методи контролю технологічних параметрів та якісних характеристик продукту.

#### **2.4 Система контейнер/закупорювальний засіб**

В якості первинної упаковки для фасування ліофілізату для ін'єкцій на основі доксицикліну по 100 мг використовують: трубчасті прозорі скляні контейнери (флакони по 10 мл), виробництва «Jinan Youlyu Industrial Co. Ltd.»

(Китай), типу R-10, виготовлені з високоякісного боросилікатного нейтрального скла І гідролітичного класу, регламентованого для зберігання парентеральних ЛЗ.

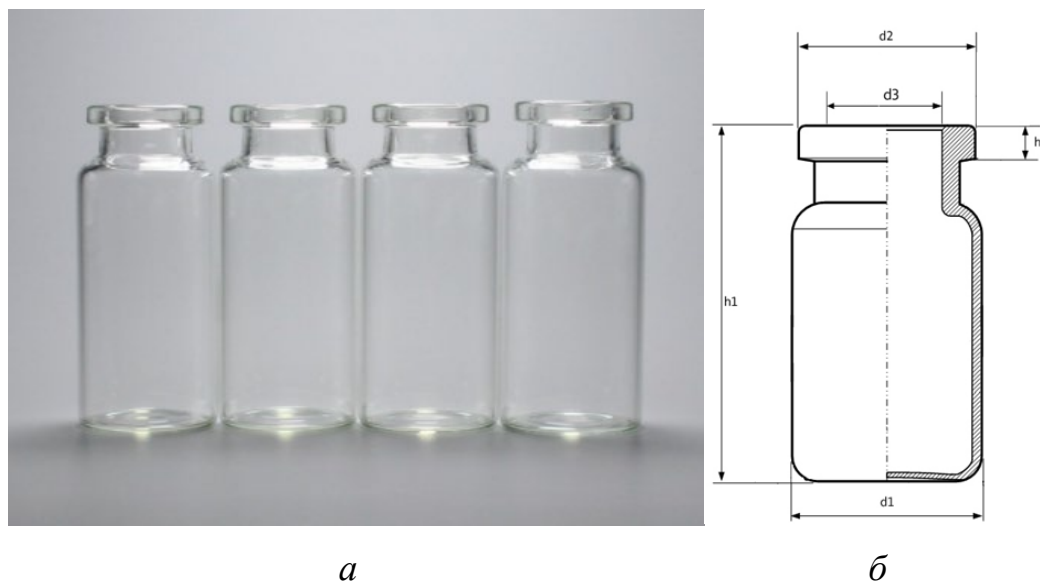


Рисунок 2.4 – Скляний трубчатий флакон, 10 мл, тип R-10

На рис. 2.4 зображено зовнішній вигляд (а) та креслення (б) прозорого трубчатого флакону типу R-10, призначеного для ліофільного висушування та зберігання розробленого ЛЗ, матеріал – боросилікатне скло (І гідролітичний клас).

Технічні характеристики скляного флакону для ліофілізації місткістю 10 мл наведено в табл. 2.9.

Таблиця 2.9 – Технічні характеристики скляного трубчатого флакону, тип R-10

Геометричні параметри	Флакон R-10 (10 мл)
Висота флакону (h1)	51,0±0,5
Висота віночка горловини флакона (h2)	3,6±0,2
Зовнішній діаметр корпусу тари (d1)	22,3±0,3
Зовнішній діаметрів віночка горловини (d2)	19,9±0,2
Внутрішній діаметрів віночка горловини (d3)	12,8±0,2
Номінальна місткість, мл	10
Фактична місткість, мл	11,0-12,5

Для забезпечення герметичності обрано стерилізовані оксидом етилену гумові пробки для ліофілізації виробництва «Jinan Youlyu Industrial Co. Ltd.» (Китай), тип 20-D4, матеріал – бромбутил (BIBR) або хлорбутил (CIBR). Зовнішній вигляд (а) та креслення (б) укупорювальних засобів представлено на рис. 2.5.

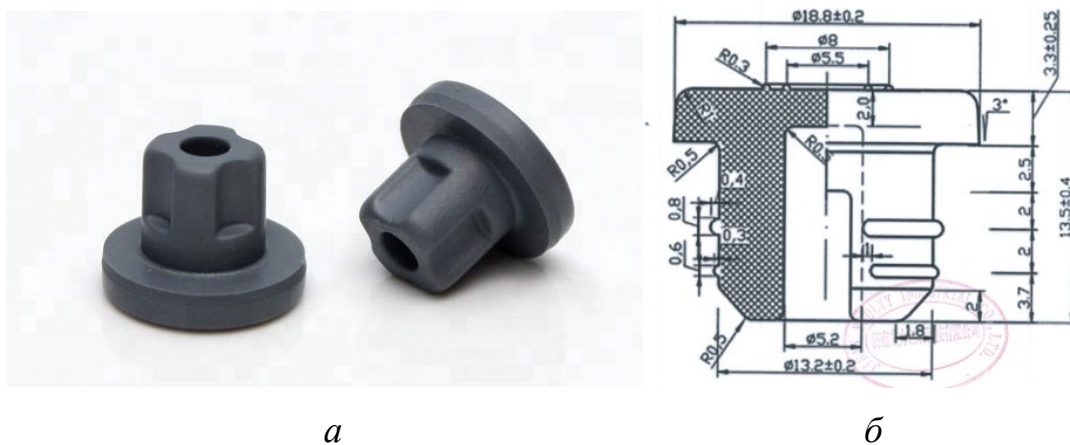


Рисунок 2.5 – Стерильна гумова пробка, тип 20-D4

На рис. 2.6 наведено зовнішній вигляд (а) та креслення (б) алюмінієвих ковпачків з відкидною пластиковою кришкою типу FLIP-OFF, що використовуються для вальцювання укупорених флаконів, виробник «Jinan Youlyu Industrial Co. Ltd.» (Китай).

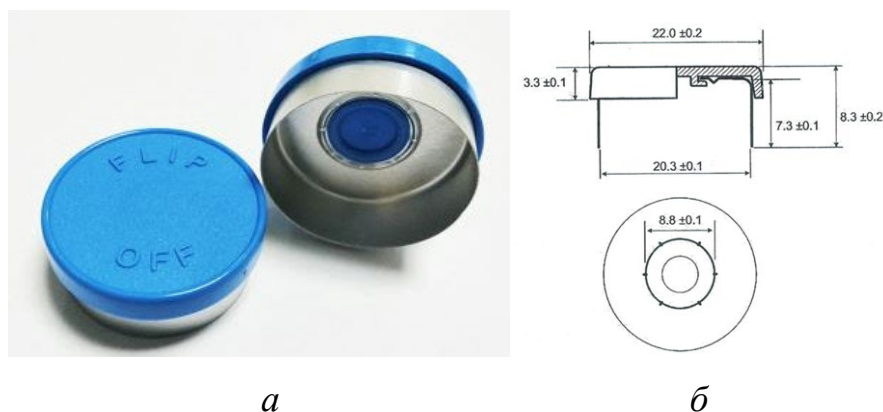


Рисунок 2.6 – Ковпак алюмінієвий, тип FLIP-OFF

Отже, перевагами обраних видів пакування є: точні геометричні розміри комплектуючих (діаметр горловини, внутрішньої частини гумової пробки та ковпака) що забезпечують герметичність флаконів з ГЛЗ, стійкість до режимів ліофільного висушування, скло І гідролітичного класу, пробки газо- та паронепроникні, не потребують додаткової стерилізації [11].

## 2.5 Біологічні випробування лікарського засобу

На наступному етапі досліджено антимікробну активність отриманих зразків ліофілізованого порошку (рецептура №2) та проведено випробування за показниками «Стерильність», «Пірогенність», «Аномальна токсичність».

### 2.5.1 Порівняльні дослідження антибактеріальної дії ліофілізованого порошку доксицикліну хіклату

Дослідження антимікробної активності ліофілізованого порошку проводили *in vitro*, в якості тест-культури використовували 5 музейних штамів: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus suis* ATCC 10234 і грамнегативні культури *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Рівень бактеріостатичної активності препарату встановлювали шляхом визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) доксицикліну лунково-дифузійним методом відповідно до методики «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» на еталонних штаммах [24].

Бактеріостатичні властивості ліофілізованого порошку, що містить 100 мг доксицикліну хіклату (ДХ), порівнювали з активністю препарату «Доксициклін-Дарниця» у твердих желатинових капсулах по 100 мг ДХ, виробництва ПрАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця"», оскільки перехід від внутрішньовенного до перорального шляху введення показаний при можливості проведення пероральної терапії.

Для приготування суспензії використовувалися добові культури мікроорганізмів, вирощені на неселективному твердому поживному середовищі – соєво-казеїновому агарі (СКА) виробництва HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Індія. Відбирали однотипні, чітко ізольовані колонії та петлею переносили в пробірку із стерильним фосфатно-сольовим буфером (ФСБ), за допомогою денситометра McFarland units DEN-1 (BioSan, Латвія) доводили щільність до 0,5 за стандартом МакФарланда, що відповідало  $1,5 \text{ КО} \times \text{E}/10^8$  мл.

Інокуляцію здійснювали методом посіву суцільним «газоном». Для цього піпеткою наносили по 1-2 мл суспензії мікробних клітин на чашки Петрі з СКА і рівномірно розподіляли, після чого видаляли надлишок інокулюма. Привідкриті чашки підсушували при кімнатній температурі протягом 10-15 хв [24].

Приготували 3 розчини доксицикліну хіклату в концентрації 1000,0 мкг/мл із субстанції АФІ, ліофілізату та капсульної маси твердих желатинових капсул.

Наважки для отримання розчинів розраховували за формулою (2.2):

$$m_{ДХ_{теор.}} (мг) = \frac{C(мкг/мл) \times V_{теор.}(мл)}{A(вміст ДХ в мкг/мл)} \quad (2.2)$$

де  $m_{ДХ_{теор.}}$  – теоретична наважка (ДХ);

$C$  – необхідна концентрація ДХ;

$V_{теор.}$  – об'єм води для ін'єкцій, необхідний для розчинення теоретичної наважки;

$A$  – активність ДХ (кількість ДХ в субстанції) [24].

Кількість води для ін'єкцій розраховували за формулою (2.3):

$$V_{пратк.} (мл) = \frac{m_{ДХ_{пратк.}}(мг) \times V_{теор.}(мл)}{m_{ДХ_{теор.}}(мг)} \quad (2.3)$$

де  $V_{пратк.}$  – об'єм води для ін'єкцій, необхідний для розчинення практичної наважки;

$m_{ДХ_{пратк.}}$  – отримана наважка ДХ;

$m_{ДХ_{теор.}}$  – теоретична наважка ДХ;

$V_{теор.}$  – об'єм води для ін'єкцій, необхідний для розчинення теоретичної наважки [24].

Із кожного з 3-х приготованих розчинів за допомогою контролера для піпеток VITLAB рірео (VITLAB, Німеччина) готували кратні розведення з кінцевими концентраціями: 12 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,5 мкг/мл і 0,25 мкг/мл. Кінцеві концентрації визначали в залежності від рівня чутливості тест-штамів мікроорганізмів до антибіотика.

Співвідношення кількості води для ін'єкцій і основних розчинів для отримання необхідних робочих розведень наведено в табл. 2.10.

Таблиця 2.10 – Розрахунок кількості розчинника та основних розчинів

Кількість основного розчину відомої концентрації та розчинника, мл	Концентрація робочих розведень, мкг/мл
1 мл 1000,0 мкг/мл в 24 мл води	40
3 мл 40,0 мкг/мл в 7 мл води	12
1 мл 40,0 мкг/мл в 4 мл води	8
1 мл 40,0 мкг/мл в 9 мл води	4
1 мл 40,0 мкг/мл в 19 мл води	2

Кількість основного розчину відомої концентрації та розчинника, мл	Концентрація робочих розведень, мкг/мл
1 мл 40,0 мкг/мл в 39 мл води	1
1 мл 40,0 мкг/мл в 79 мл води	0,5
1 мл 8,0 мкг/мл в 159 мл води	0,25

На чашках Петрі з СКА сформували по 7 лунок і за допомогою піпет-дозатора змінного об'єму VITLAB micropipette (VITLAB, Німеччина) вносили по 0,020 мкл робочих розведень приготованих концентрацій так, щоб препарат не виливався з комірок. Чашки Петрі поміщали в термостат і інкубували при температурі 35 °С протягом 18-24 год. Після інкубації чашки поміщали догори дном на темну матову поверхню так, щоб світло падало на них під кутом 45°.

Облік результатів проводили шляхом виміру зони затримки росту мікроорганізмів в міліметрах (з точністю до 1 мм), включаючи діаметр лунок. При вимірюванні зони затримки росту орієнтувалися на зону повного пригнічення видимого росту. Результати оцінювали за критеріями:

- відсутність зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки і зони діаметром до 10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до зразків;
- зони діаметром 10-15 мм оцінювали як помірну чутливість культури до концентрації досліджуваного протимікробного ЛЗ;
- зони діаметром 15-25 мм – штамм мікроорганізму чутливий до впливу дослідного зразка;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка [24].

МІК визначали за найменшою концентрацією ДХ, яка інгібувала видимий ріст бактеріальних колоній [83].

Результати порівняльних досліджень ефєктивності розробленого антибактеріального ЛЗ відносно *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus suis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* наведено на рис. 2.7-2.11 і в таблицях 2.11-2.12.

За результатами проведених досліджень виявлено, що доксицикліну хіклат у формі ліофілізату виявляє широкий спектр антибактеріальної активності.



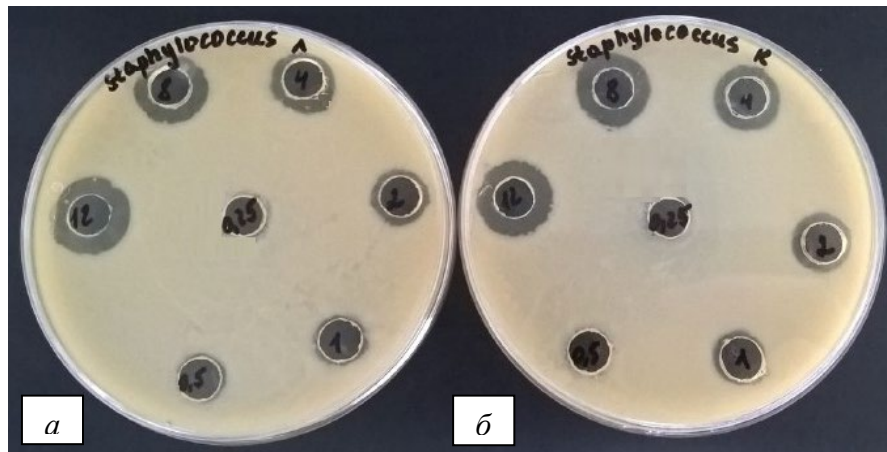


Рисунок 2.7 – Результати визначення чутливості тест-штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 до доксицикліну в формі ліофілізату (а) і желатинових капсул (б)

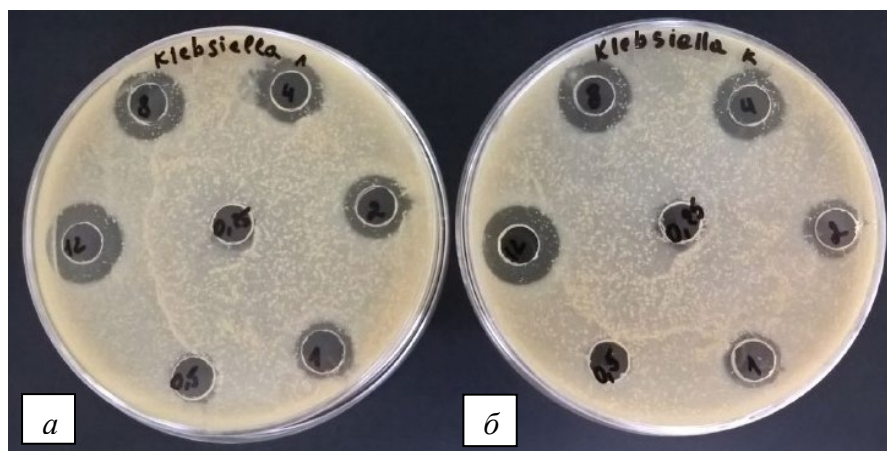


Рисунок 2.8 – Результати визначення чутливості тест-штаму *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 до доксицикліну в формі ліофілізату (а) і желатинових капсул (б)

Як видно з рис. 2.7–2.8, при використанні робочих розведених 4,0 мкг/мл як для ліофілізованого порошку, так і для оральної форми встановлено відсутність росту колоній виду *Staphylococcus aureus*.

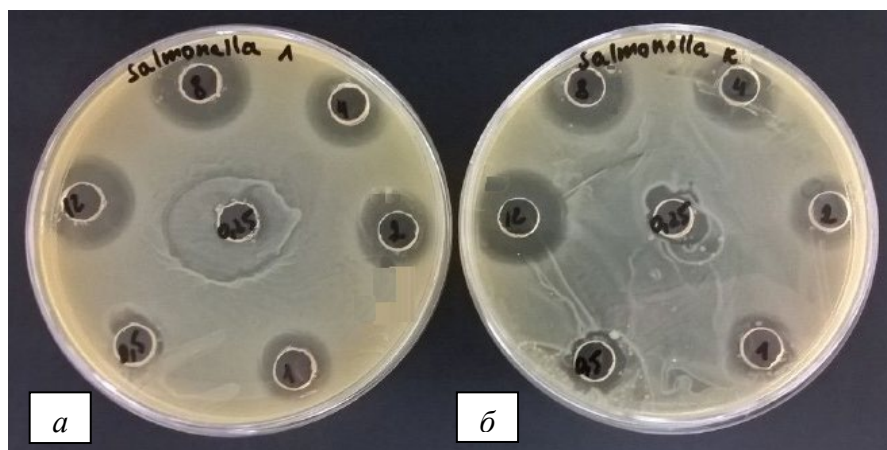


Рисунок 2.9 – Результати визначення чутливості тест-штаму *Salmonella enterica* ATCC 6017 до доксицикліну в формі ліофілізату (а) і желатинових капсул (б)

При робочому розведенні 2,0 мкг/мл визначено, що *Klebsiella pneumoniae* виявляє помірну чутливість до антибіотика.

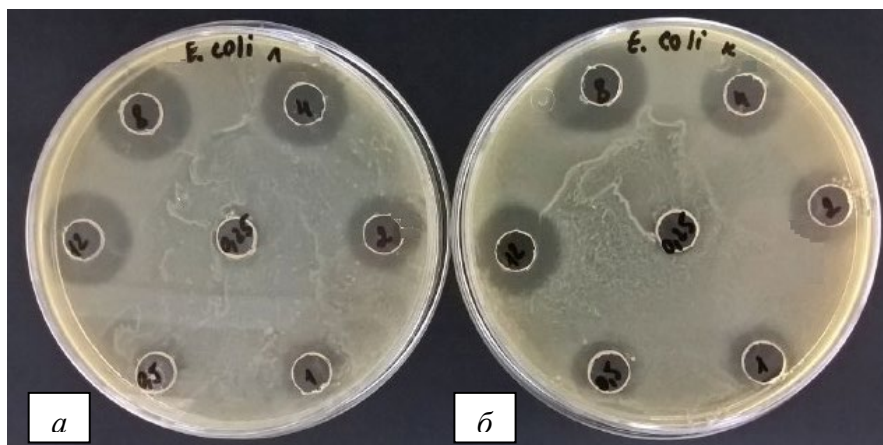


Рисунок 2.10 – Результати визначення чутливості тест-штаму *Escherichia coli* ATCC 25922 до доксицикліну в формі ліофілізату (а) і желатинових капсул (б)

МІК відносно *Salmonella enterica* і *Escherichia coli* становить 1,0 мкг/мл (рис. 2.9 та 2.10).

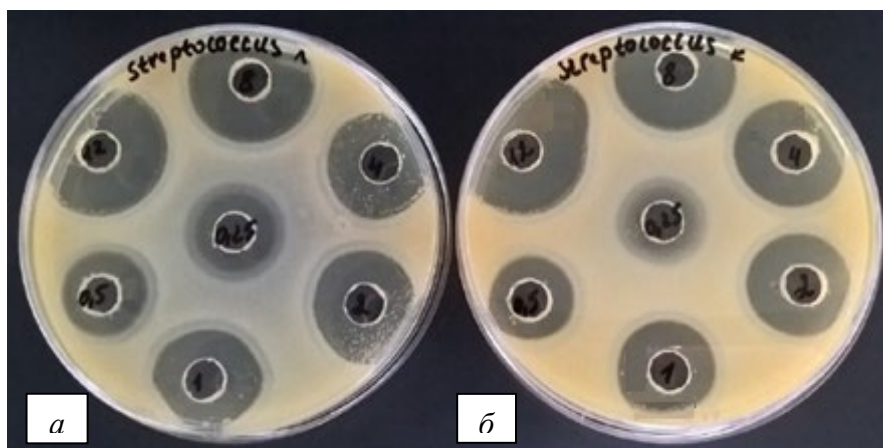


Рисунок 2.11 – Результати визначення чутливості тест-штаму *Streptococcus suis* ATCC 10234 до доксицикліну в формі ліофілізату (а) і желатинових капсул (б)

З рис. 2.11 видно, що найбільш чутливим до препарату на основі доксицикліну є штам *Streptococcus suis* (МІК < 0,25 мкг/мл), при тому встановлено, що діаметр зони затримки росту доксицикліну з робочих розведень ліофілізованого порошку значно перевищує відповідний діаметр розчину антибіотика з капсульної маси.

Рівень бактеріостатичної активності досліджуваних препаратів щодо еталонних штамів мікроорганізмів наведено в табл. 2.11.

Таблиця 2.11 – Рівень бактеріостатичної активності досліджуваних препаратів

Еталонні штами мікроорганізмів	Діаметри зон затримки росту при застосуванні максимальної досліджуваної концентрації антибіотика ( $C_{max}$ ) і МІК, мм			
	Ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій		Тверді желатинові капсули «Доксициклін-Дарниця»	
	$C_{max}$	МІК	$C_{max}$	МІК
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	14,0±0,3 (помірно чутл.)	10,2±0,2 (помірно чутл.)	13,7±0,3 (помірно чутл.)	10,0±0,2 (помірно чутл.)
<i>Streptococcus suis</i> ATCC 10234	27,1±0,1 (висока чутл.)	18,6±0,2 (чутливий)	26,8±0,1 (висока чутл.)	17,0±0,2 (чутливий)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	13,8±0,2 (помірно чутл.)	10,3±0,1 (помірно чутл.)	13,0±0,2 (помірно чутл.)	10,1±0,3 (помірно чутл.)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21,2±0,2 (чутливий)	11,2±0,3 (помірно чутл.)	19,5±0,2 (чутливий)	12,4±0,4 (помірно чутл.)
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 6017	22,6±0,3 (чутливий)	12,5±0,2 (помірно чутл.)	22,9±0,3 (чутливий)	12,2±0,2 (помірно чутл.)

Показники МІК досліджуваних ЛЗ для еталонних штамів мікроорганізмів представлено в табл. 2.12.

Таблиця 2.12 – МІК досліджуваних антибактеріальних препаратів

Вид мікроорганізмів	Штам	Показник МІК, (мкг/мл)	
		Ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій	Тверді желатинові капсули «Доксициклін-Дарниця»
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	4,0	4,0
<i>Streptococcus suis</i>	ATCC 10234	<0,25	<0,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	2,0	2,0
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	1,0	1,0
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 6017	1,0	1,0

Результати проведеного експерименту підтверджують наявність чутливості тест-штамів до дії розробленого препарату доксицикліну хіклату у вигляді ліофілізату: висока чутливість – *Streptococcus suis*; чутливість – *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*; помірна чутливість – *Staphylococcus aureus* і *Klebsiella pneumoniae*.

Експериментально встановлено, що обидва зразки у формі ліофілізату та твердих желатинових капсул виявляють антибактеріальну активність у МІК, але розчинений парентеральний ГЛЗ дає змогу швидше доставити АФІ в системний кровотік порівняно з повільним вивільненням та всмоктуванням пероральної ЛФ.

#### 2.5.2 Мікробіологічні випробування за показником «Стерильність»

Випробування проводять відповідно до вимог ЕР, 2.6.1. або ДФУ, 2.6.1. Всі дослідження проводили в асептичних умовах.

У 3 флакони препарату додавали по 10,0 мл стерильного ФСБ з рН (7,2±0,2) для розчинення ліофілізату. Отриману рідину переносили у флакон об'ємом 50,0 мл для формування об'єднаної проби.

Для проведення випробування застосовують *метод мембранної фільтрації*.

Після розведення весь отриманий об'єм негайно фільтрують. Для фільтрації використовували стандартні фільтри, з розміром пор не більше 0,45 мкм. Перед фільтрацією препарату фільтри зрошували тим же розчинником, що використовувався для приготування зразка. Кожний мембранний фільтр відмили 5 порціями, по 100 мл промивної рідини, такого складу як і розчинник. Після цього мембранний фільтр, дотримуючись правил асептики перемістили у відповідне живильне середовище.

Мембранний фільтр, призначений для визначення наявності анаеробних мікроорганізмів, поміщають в рідке тіогліколеве середовище або сабуро-декстрозний агар та інкубують впродовж 14 діб за температури від 30°C до 35°C.

Мембранний фільтр, призначений для визначення наявності грибів та аеробних бактерій, поміщають в товщу СКА або триптин-соевого бульйону та інкубують протягом 14 діб за температури від 20°C до 25°C. Результати випробування наведено на рис. 2.12.

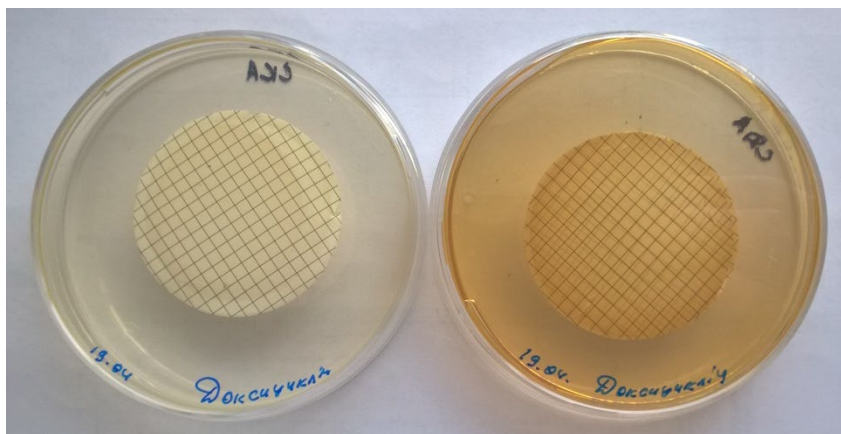


Рисунок 2.12 – Результати випробування розробленого ліофілізату за показником «Стерильність»

Отже, розроблений препарат стерильний, так як при візуальному обліку не виявлено зростання мікроорганізмів. Для отримання сертифікату на відповідність GMP контроль стерильності проводиться в кожній серії парентерального ЛЗ з доксицикліну хіклатом.

### 2.5.3 Тест за показниками «Аномальна токсичність» та «Пірогенність»

Дослідження проведено на кролях породи Шиншила на базі віварію ТОВ «БІОТЕСТЛАБ» у період проходження науково-дослідної практики.

Так як досліджуваний препарат потребує приготування розчину для внутрішньовенних інфузій та повільного введення, перед застосуванням до флакону (зі 100 мг ДХ) вводять незначну кількість (5-7 мл) відповідного розчинника, а потім переносять до флакону з тим же розчином для інфузій в об'ємі 200 мл, при цьому кінцева концентрація розчину становить 0,5 мг/мл. Для проведення біологічних випробувань застосовують ту ж концентрацію готового до введення ЛЗ, яка зазначається в інструкції до застосування.

Визначення пірогенності проводили на 3 здорових статевозрілих кролях масою не менше 1,5 кг згідно з ДФУ, 2.6.8. Найближчі 2 тижні перед випробуванням контролювали зміну маси тіла, тварини не отримували ін'єкцій антибіотиків та отримували повноцінне здорове харчування [5].

У тест-дозі, яка становить 0,1 мл препарату на 1 кг маси тіла тварини препарат вводили внутрішньовенно у вушну вену.

Результати випробувань за показником «Пірогенність» представлено у табл. 2.13.

Таблиця 2.13 – Результати випробувань за показником «Пірогенність»

Лабораторні тварини	Вихідна температура тіла	Температура після уведення (протягом 1 год)	Зміна температури	Сумарне збільшення температури
Кріль №1	38,4 °С	38,7 °С	0,3 °С	1,0 °С
Кріль №2	39,4 °С	39,9 °С	0,5 °С	
Кріль №3	38,7 °С	38,9 °С	0,2 °С	

У жодного з 3 кролів температура тіла не підвищилась на більше ніж 0,5 °С, сумарна реакція не перевищила 1,15 °С.

Тест за показником «Аномальна токсичність» проведено відповідно до вимог ЕР, 2.6.9. або ДФУ, 2.6.9.

Токсичність визначали на п'ятох клінічно здорових білих мишах обох статей, з масою тіла 19-21 г кожна. Препарат вводили внутрішньовенно по 0,5 мл протягом 15-30 с. Кожну мишу використовують у досліді один раз [10].

Впродовж часу спостереження (72 год) після введення препарату всі тварини не зафіксовано випадків смерті, усі лабораторні тварини залишилися живими та клінічно здоровими. Лише у однієї миші спостерігалась відсутність апетиту, що тривало 8 годин.

На основі даних отриманих при випробуваннях можна зробити висновок, що розроблений генеричний препарат є безпечним та апірогенним.

## Висновок до розділу 2

1. Визначено оптимальний склад лікарського засобу Доксидикліну хіклат, ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій на підставі однофакторного експерименту, де фактор варіації складав вибір допоміжних речовин. Для забезпечення стабільності застосовано антиоксиданти та стабілізатори (динатрію едетат, натрію сульфат), що дозволило отримати ліофілізований порошок з добре сформованою пористою масою без сколів, зламів та тріщин, стійкий до струшування.

2. Розроблено технологію виробництва ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій. Критичними стадіями виробництва, що впливають на якість продукту, визначено стадію обробки розчину сорбентом, фільтрацію та режим ліофілізації.

3. Результати, отримані при прискореному дослідженні стабільності розчину, отриманого з дослідної серії ліофілізату, за умов зберігання у термостаті при 40 °С протягом доби, свідчать про незмінність критичних показників якості ЛФ, зокрема опису, прозорості, кольоровості (порівняно з еталоном та за показником оптичної густини).

3. Підібрано первинну упаковку для ліофілізованого порошку – комплект зі скляного флакону R-6, стерильної гумової пробки типу 20-D4 та алюмінієвого ковпака з пластиковою кришкою FLIP-OFF, що призначені для сублімаційного висушування парентеральних ЛЗ і забезпечення стабільності препарату в процесі зберігання (виробник «Jinan Youlyu Industrial Co. Ltd.», Китай).

4. Отримані результати дослідження *in vitro* бактеріостатичної дії та МІК антибіотика показали, що розроблений ЛЗ проявляє широкий спектр антимікробної активності. Проведені порівняльні дослідження *in vitro* для двох лікарських засобів доксицикліну хіклату по 100 мг у формі ліофілізату для приготування розчину для ін'єкцій та твердих желатинових капсул «Доксициклін-Дарниця», підтверджують еквівалентність їх бактеріостатичної дії щодо бактерій – збудників інфекцій людини.

5. При МІК антибіотика, яка становить 4,0 мкг/мл, усі досліджені штами бактерій проявляють чутливість. Найбільш чутливим штамом є *Streptococcus suis*, а найбільш стійким до впливу – *Staphylococcus aureus*.

6. При проведенні випробувань за показниками «Стерильність» та «Пірогенність» встановлено, що отриманий ГЛЗ є стерильним та апірогенним.

7. Результати тесту «Аномальна токсичність» показують, що ліофілізат з доксицикліну хіклатом є безпечним та не має токсичного впливу на організм, усі експериментальні тварини (миші) залишилися живими.

### РОЗДІЛ 3

## РОЗРОБКА GMP КОНЦЕПЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТУ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

### 3.1 Огляд технологічного обладнання

Виготовлення ліофілізованих порошків для парентерального застосування – складна технологія, що поєднує в собі багато стадій та операцій. Для виробництва якісного, безпечного та ефективного ліофілізату необхідно ввести в експлуатацію як мінімум такі види обладнання:

- Реактор з мішалкою;
- Установа для стерилізуючої фільтрації;
- Автоматична лінія для фасування та укупорки флаконів гумовими пробками;
- Вакуумна установка для ліофілізації;
- Роторна машина для обкатки флаконів алюмінієвими ковпаками;
- Апарати для фасування в первинну упаковку та групову тару.

Підбір устаткування для виготовлення антибактеріального препарату проведено, беручи до уваги теоретичну доцільність застосування апаратури, економічні фактори та можливості використання розробленої технології.

До технології виробництва ліофілізату для приготування ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату по 100 мг входять стадії:

Підготовка персоналу, обладнання, приміщень та сировини;

Стадія 1. Приготування розчину;

Стадія 2. Фільтрування;

Стадія 3. Стерилізуюча фільтрація, наповнення та передукупорка флаконів;

Стадія 4. Ліофілізація та доукупорювання флаконів;

Стадія 5. Завальцювання флаконів;

Стадія 6. Інспекція (контроль механічних включень та герметичності);

Стадія 7. Маркування та пакування;

Контроль готової продукції.



У табл. 3.1. наведено перелік обладнання, яке застосовують для отримання ліофілізованого парентерального ЛЗ.

Таблиця 3.1 – Перелік обладнання для виготовлення ліофілізату

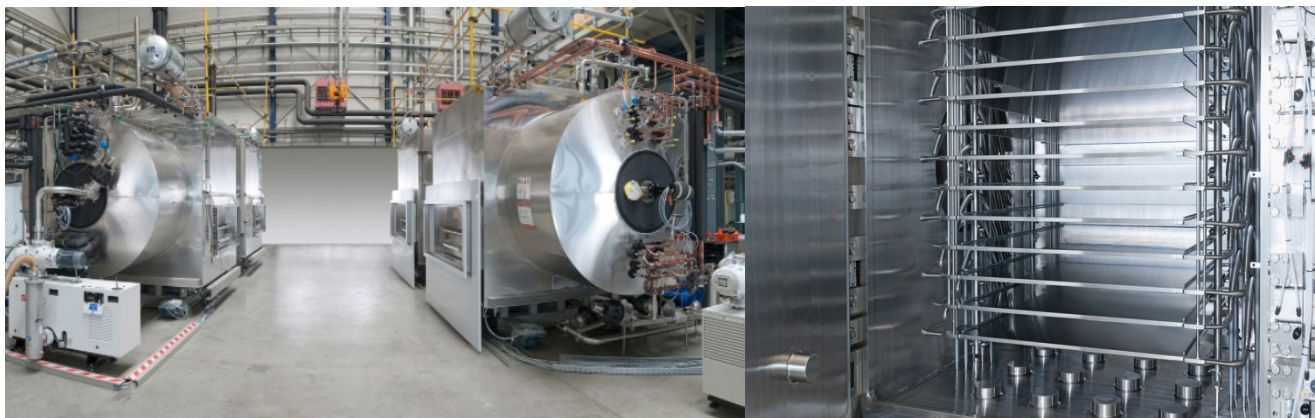
<b>Обладнання</b>	<b>Виробник</b>	<b>Технологічні характеристики</b>
Ваги аналітичні Cubis 124S	Sartorius, Німеччина	Межа зважування 120 г. Ціна поділки 0,1 мг. Розмір чаші, мм: 85x85.
Ваги електронні 36201P	Sartorius, Німеччина	Межа зважування 10 кг. Ціна поділки 0,1 г. Розміри, мм: 200×180×280. Споживча потужність 8 ВА.
Ємкість для зважування	Україна	Місткість 0,01 м <sup>3</sup> . Матеріал – пластмаса, сталь. Ручне завантаження і вивантаження.
Реактор з магнітною мішалкою EX100	LabPHARMA, Чехія	Вертикальний циліндричний апарат із сорочкою та нижнім вивантаженням продуктів. Робочий об'єм 0,1 м <sup>3</sup> . Керування за допомогою пульта. Швидкість 80 об/хв. Матеріал сталь AISI 316L. Потужність 1,5 кВт.
Патронні фільтри для грубої та тонкої очистки	PALL, США	Рейтинг 1,0 - 3,0 мкм та 0,45 мкм. Продуктивність 8,0 л/хв при P=0,82 МПа. Матеріал сталь та поліпропілен.
Фільтр для стерильної фільтрації YFOS 040 15, тип «Optiseal», «Durapore»	Millipore, США	Рейтинг 0,22 мкм. Розмір патрону: висота - 230 мм, діаметр - 67 мм. Фільтруюча площа 0,177м <sup>2</sup> Продуктивність 6,0 л/хв при P=0,7 МПа. Матеріал політетрафторетилен, корпус – сталь 316L.
Збірник попередньо профільтрованого розчину NEBOLD	NEBOLD «GmbH&Co.KG» Німеччина	Об'єм 200л. Заповнення насосом або вакуумом, вантаження насосом. Матеріал сталь 316L.
Автоматична лінія розливу та укупорки	ROTA, Німеччина	Доза наповнення від 0,2-10мл. Потужність 5кВт. Розміри 3700x2200x2300 мм. Висота робочої поверхні 900мм. Продуктивність 21000 флаконів/год.

Обладнання	Виробник	Технологічні характеристики
Установка вакуумної ліофільної сушки GLZY-15B	Shanghai Pudong Freeze Drying Equipment Co., Ltd., Китай	Шприцеве наповнення. Зона ліофільної сушки - 1,152 м <sup>2</sup> . Робочий тиск установки – 6-8 Па. Вмістимість флаконів 12мм - 8624 шт. Потужність - 7500 Вт /год. Розміри 1640 × 1100 × (1630 + 350) мм. Вага - 1000 кг <sup>3</sup> .
Напівавтоматична машина для інспектування флаконів V 90-AVSB/60-LR	Seidenader Maschinenbau GmbH, Німеччина	3 джерела світла волоконно-оптичні. Кнопка керування: RUN, STOP, шприц за замовчуванням. Датчик положення відхилення S7-300. Розміри 2000x900x1650 мм. Потужність: 220 Вт. Продуктивність: 120 шт./хв.
Машина фінішного закупорювання флаконів, передупорених ліофільною пробкою після ліофілізації	Промвіт, Україна	Продуктивність 1200 фл./год. Подача флаконів і ковпаків автоматична. Потужність 0,8 кВт. Тиск 6,0 бар. Розміри 1998x1178x1400 мм. Маса 320 кг. Матеріали н/ж сталі AISI 316 L, AISI 304, 40X, 95X18.
Машина для маркування флаконів Willett 3940	Willett, США	Потужність 400 Вт. Продуктивність 5 флаконів/сек об'ємом 10 мл. Ручне завантаження на конвеєр. Введення напису з клавіатурно-дисплейного пристрою. Розмір маркіатора 700×700×300 мм. Розміри пристрою для нанесення напису 800×500×800 мм.
Машина для пакування у пачки BA-100	MARCHESINI, Італія	Продуктивність до 120 шт./хв. Потужність 1,5 кВт. Автоматичне вкладання. інструкцій до мед. застосування.
Автомат упаковки пачок у ящики (машина групового пакування) MC Series	Marchesini group, Іспанія	Напруга 380 В. Потужність 0,5 кВт при P=0,6 МПа. Продуктивність – 60 коробок/год. Розмір короба: мін. 120x160x120; макс. 350x500x350.

Так як виготовлення напівпродукту відбувається за класичною технологією приготування парентерального розчину, то найбільш критичними етапами є його фасування та ліофільне висушування передукупорених флаконів.

Враховуючи це, обидві стадії повинні виконуватись в приміщенні класу А з оточуючою зоною класу С, адже ГЛЗ, з наукових обґрунтувань, не раціонально піддавати автоклавуванню в кінцевій упаковці. Тому критичними показниками є герметичність, відсутність механічних домішок, включень, стерильність.

Найбільш специфічним процесом є ліофілізація, від точності здійснення якої залежить якість, безпека та ефективність ГЛЗ, на основі вище вказаних даних було підібрано установку вакуумної ліофільної сушки GLZY-15B, зовнішній (а) та внутрішній (б) вигляд якої представлено на рис. 3.1.



*а (технічна зона)*

*б (чисте приміщення)*

Рисунок 3.1 – Установка вакуумної ліофільної сушки GLZY-15B, виробник Shanghai Pudong Freeze Drying Equipment Co., Ltd., Китай

Нормативні вимоги та технічні характеристики обладнання за проектною документацією фірми-виробника:

Зона ліофілізаційної сушки - 1,152 м<sup>2</sup>;

- Розмір полиці - 480x600 мм, розмір лотка - 475x595 мм;
- К-сть полиць 4 + 1 шт (верхня для теплового випромінювання);
- Розмір лотка - 475x595 мм;
- Кількість лотків – 4 шт;
- Температура нагрівання - 0+5 °С;
- Температура заморожування -35-60 °С;
- Остаточний вакуум – 8 Па;

- Геометричні розміри  $1640 \times 1100 \times (1630 + 350)$  мм;
- Вага -  $1000 \text{ кг}^3$ ;
- Час технологічного циклу – 36-48 годин;
- Максимальний рівень шуму – 75 дБ
- Завантаження та розвантаження – автоматичне, за рахунок допоміжних пристроїв (тримачів, підйомників).
- Управління з операційної панелі (графічний монітор з сенсорним екраном з можливістю архівації, автоматизації та візуалізації ходу технологічних процесів. Багаторівневий захист паролем для входу в систему.
- Наявна гідравлічна система зупинки.
- Холодильний агент, компресор відомого міжнародного бренду, низький рівень шуму, хороша ефективність.
- Історичні криві і записи можуть бути перевірені, а цикли зберігання змінені в режимі реального часу.
- Наявне відображення аварійних сигналів в реальному часі, історична функція запиту аварійних сигналів для діагностики несправностей і технічного обслуговування обладнання.
- Використовується середовище із низькою в'язкістю (силіконове масло), що циркулює для контролю температури, висока точність контролю температури, однорідність температури полиць  $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- Зовнішні панелі з матеріалу SS304, що підходить для асептичних вимог. Камера, полиці, піддони, конденсатор виготовлені з матеріалу SS304 або SS316 в якості опції.
- Нагрівання теплоносія за допомогою вбудованих ТЕНів і автоматична підтримка температури продукту з інтелектуальною системою термостатування з точністю  $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- Робоча камера – ємність високого тиску, в якій відбувається процес заморозки і вакуумної сушки. Форма камери зазвичай квадратна, конструкція камери робить її зручною для обслуговування, очистки, зменшує кількість мертвих зон.

- Гідравлічна система: служить для підняття і опускання полиць під час вивантаження і завантаження продукту. Одночасно використовується для закупорювання флаконів перед вивантаженням.

- Система СІР: мийка на місці може здійснюватися як в ручному, так і в автоматичному режимі, устаткування спроектовано і вироблено у відповідності зі стандартами cGMP і FDA.

- Ергономічний і технічний дизайн.

Отже, здійснено підбір обладнання з оптимальними експлуатаційними характеристиками для виготовлення промислової серії препарату доксицикліну хіклату, порошку ліофілізованого по 100 мг.

### 3.2 Виробнича рецептура

Усі операції з виготовлення ЛЗ мають здійснюватись за чітко прописаною нормативно-технічною документацією (НТД): технічним регламентом на даний препарат, технологічними інструкціями (ТІ) та стандартними робочими процедурами (СОП).

З метою забезпечення точності складу, зокрема дози ГЛЗ у однодозовому контейнері, що, в свою чергу, впливає на безпеку, ефективність та якість продукції, необхідно максимально точно виконувати усі операції пов'язані з розрахунком та зважуванням компонентів, для цього розроблено технологічні інструкції, які затверджуються уповноваженими особами виробничого відділу.

Матеріали ТІ, що містять виробничу рецептуру, та короткий опис процесу виробництва входять до складу технологічного регламенту [16].

У табл. 3.2 представлено виробничу рецептуру для виготовлення промислової серії ліофілізату для приготування ін'єкцій з доксицикліну хіклатом по 100 мг.

Таблиця 3.2 – Виробнича рецептура, розрахована на серію ліофілізованого порошку 10 л (при об'ємі дозування 1 мл).

Найменування компонентів	Маса компонентів (г) на серію 10 л	Нормативний документ (НД)
Доксицикліну хіклат	1150,0	МКЯ згідно СП вхідного

Найменування компонентів	Маса компонентів (г) на серію 10 л	Нормативний документ (НД)
(в перерахунку на 100% безводну речовину)		контролю, ЕР*
Натрію сульфит	6,0	ЕР*, СП вхідного контролю
Динатрію едетат	0,20	ЕР*, СП вхідного контролю
Вода для ін'єкцій	8843,8	ЕР*, СП вхідного контролю
<b>Всього:</b>		<b>10 000</b>

Примітка: \* - контроль за критеріями діючих видань Фармакопеї.

### 3.3 Характеристика сировини та матеріалів

Характеристику сировини та матеріалів, необхідних при виготовленні Доксицикліну хіклату, ліофілізату для ін'єкцій наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3 – Характеристика вихідної сировини та матеріалів

Найменування	Стандарт, що регламентує	Показники, обов'язкові для перевірки
<i>1. Основна сировина</i>		
Доксицикліну хіклат Doxycycline hyclate	ДФУ або ЕР	Опис, розчинність, рН, ідентифікація, питомий показник поглинання, питома оптичне обертання, світлопоглинальні та супровідні домішки, важкі метали, етанол, вода, сульфатна зола, кількісний вміст, бактеріальні ендотоксини [5].
Натрію сульфит безводний Sodium sulfite anhydrous	ДФУ або ЕР	Опис. Білий або майже білий порошок. Розчинність. Легко розчинний у воді, майже не розчинний в етанолі 96%. Ідентифікація. Відповідно до АНД. Прозорість. Прозорий. Кольоровість. Безбарвний. Тіосульфати. Не більше 0,1 %. Залізо, важкі метали та селен. Не більше 0,001% (10 ppm). Цинк. Не більше 0,0025% (25 ppm). Кількісний вміст. 95,0 – 100,5 % [5].
Динатрію едетат (Трилон Б) Disodium edetate	ДФУ або ЕР	Опис. Білий кристалічний порошок без запаху. Розчинність. Розчинний у воді, не розчинний в 96 % спирті. Ідентифікація. Відповідно до АНД. Прозорість розчину. Прозорий.

Найменування	Стандарт, що регламентує	Показники, обов'язкові для перевірки
		Кольоровість розчину. Безбарвний. рН. Від 4,0 до 5,5. Залізо. Не більше 0,008% (80 ppm). Важкі метали. Не більше 0,002 % (20 ppm). Кількісний вміст. 98,5 – 101,0% [5].
Вода для ін'єкцій Water for injections	ДФУ або ЕР	Опис. Прозора незабарвлена рідина. Питома електропровідність. Не більше 1,1 мкСм•см <sup>-1</sup> при 20 °С. Нітрати. Не більше 0,00002 % (0,2 ppm). Загальний органічний вуглець. Не більше 0,5 мг/л. Мікробіологічна чистота. Загальне число аеробних мікроорганізмів: не більше 10 КУО/100мл. Бактеріальні ендотоксини. Не більше 0,25 МО/мл [5].
<b>2. Допоміжні матеріали</b>		
Флакони скляні типу R-10	Згідно з чинною НД	Згідно сертифікату виробника
Стерильна гумова пробка типу 20-D4		
Алюмінієвий ковпак FLIP-OFF		
Коробки з гофрокартону		
Засоби рідкі миючі		
Марля бавовняна паперова		
Дезінфектанти		
Папір масштабного координатного		
Латексні рукавиці		
Маска 3-шарова		
Шапочка		
Фільтр. папір		
Етикетка самокл.		
Скотч		
Інструкції до мед. застосування		

### 3.4 Технологічна схема виготовлення ліофілізованого порошку

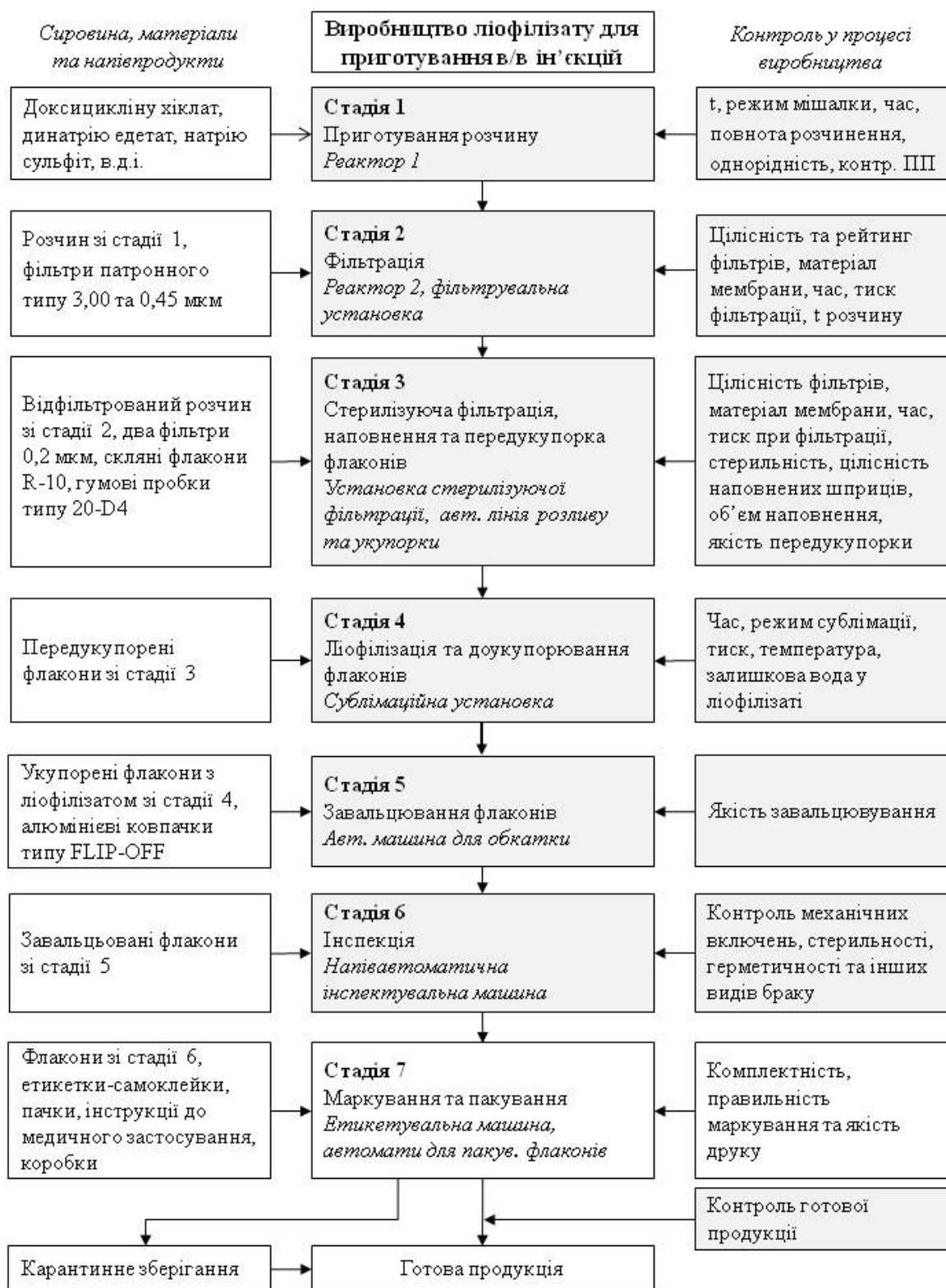


Рисунок 3.2 – Технологічна схема виробництва Доксицикліну хіклату, ліофілізату для приготування ін'єкцій по 100 мг

Критичні стадії та точки міжопераційного контролю процесу виділено сірим кольором (рис. 3.2).



### 3.5 Короткий опис технології

Ліофілізат для приготування ін'єкцій доксицикліну хіклату по 100 мг у флаконі є стабільною однорідною пористою масою світло-жовтого кольору.

Перерахунок необхідної кількості АФІ доксицикліну хіклату здійснюють з урахуванням даних сертифікату-виробника та протоколів вхідного контролю субстанції у ВКЯ за формулою (3.1):

$$H = \frac{10000 \cdot 0,100 \cdot 100 \cdot 100}{C_H \cdot (100 - W_H)} \quad (3.1)$$

де  $H$  – вага діючої речовини, що необхідна на загрузку, г;

$C_H$  – кількісний вміст 100%-го доксицикліну в субстанції, %;

$W_H$  – вміст води в діючій речовині, %;

0,100 – вміст 100%-го доксицикліну в 1 мл напівпродукту – приготованого розчину, г;

10000 – об'єм серії (теоретичний, напівпродукту), мл;

100 – коефіцієнт, що використовується для застосування процентних одиниць у математичних формулах.

Підготовка сировини. В приміщенні формування наважок за допомогою аналітичних та промислових ваг (Sartorius, Німеччина) в окремі підготовлені ємності зі сталі або пластмаси зважують сухі інгредієнти на одну серію лікарського засобу згідно з вище наведеного розрахунку (табл. 3.4) і передають в приміщення приготування, фільтрації та розливу лікарських засобів.

Таблиця 3.4 – Порядок внесення і кількість сировини, необхідна для виготовлення серії препарату об'ємом 10 л (при об'ємі дозування 1 мл).

Порядок внесення	Найменування компонентів	Теоретична маса з НД, г/10 л
1.	Вода для ін'єкцій	8843,8
2.	Динатрію едетат	0,20
3.	Натрію сульфат	6,0
4.	Доксицикліну хіклат	1150,0

**Стадія 1. Приготування розчину.** Вмикають приточно-витяжну вентиляцію. В сталевий реактор з електрополіровкою та магнітною мішалкою

(LabPHARMA, Чехія) завантажують воду для ін'єкцій (25-30 °С) і, при перемішуванні, завантажують розрахункові кількості динатрію едетату та натрію сульфату. Перемішують 10-15 хв. до повного розчинення компонентів, після чого додають хіклат доксицикліну та продовжують перемішувати 30 хв. до отримання однорідного розчину.

Для міжопераційного контролю відбирають пробу проміжного продукту (розчину для ліофілізації). При позитивному результаті аналізу до розчину додають 25 г подрібненого активованого вугілля, перемішують та залишають на 30-45 хв., після чого переходять до стадії фільтрування.

**Стадія 2. Фільтрування.** Фільтрування здійснюється на фільтраційній установці, розчин пропускають через фільтри патронний типу (PALL, США) для грубої очистки та попередньої фільтрації (діаметр пор становить 3,00 мкм і 0,45 мкм відповідно).

**Стадія 3. Стерилізуюча фільтрація, наповнення та передукупорка флаконів.** Відфільтрований розчин за допомогою стисненого повітря витискають на автоматичну лінію розливу і укупорки флаконів (ROTA, Німеччина), там рідину піддають стерилізуючій фільтрації через 2 послідовно розміщені фільтри з діаметром пор 0,2 мкм (Millipore, США) і дозують в приміщенні класу чистоти «В» в зоні ламінарного потоку – клас чистоти «А» при об'ємі дозування 1 мл в стерильні скляні флакони типу R-10 (матеріал боросилікатне скло I класу гідролітичної стійкості). Дозу регулюють автоматичним дозувальним пристроєм і періодично контролюють протягом процесу. До початку та після закінчення процесів фільтрації (як попередньої, так і фінішної) виконують перевірку фільтрів на цілісність за допомогою приладу для перевірки цілісності фільтрів Palltronic Flowstar XC. Наповнені флакони передукупорюють гумовими стерильними пробками типу 20-D4, матеріал – бромбутил (BIBR), хлорбутил (CIBR) та через матеріальний шлюз передають для завантаження у сублімаційну (ліофільну) сушарку.

**Стадія 4. Ліофілізація та доукупорювання флаконів.** Після завантаження флаконів в камеру ліофільної сушарки піддони виймають, дверцята камери

зачиняють, установку вмикають і проводять процес сушки, попередньо встановивши режим заморожування та сушки, описаний у пункті 2.2 розділу 2. Керування ліофільною сушаркою здійснюється дистанційно за допомогою комп'ютера. Після закінчення програми сушки здійснюють остаточне закупорювання флаконів безпосередньо в камері сушарки шляхом напівавтоматичного підняття полиць та стискання флаконів. Препарат у флаконах залишається під вакуумом. Після цього камеру сушки заповнюють стерильним повітрям (створюють атмосферний тиск), дверцята камери відчиняють, за допомогою піддонів та транспортувального візка флакони переносять на приймальний стіл, звідки вони конвеєром надходять до автоматичної машини для завальцювання передупорених флаконів алюмінієвими ковпачками (Промвіт, Україна).

**Стадії 5 та 6. Завальцювання флаконів та інспекція.** В процесі контролюють якість затиску (візуально) та герметичність, після чого бікс з флаконами передають в приміщення інспекції проміжної продукції для перегляду наявності механічних включень та інших видів браку на напівавтоматичній машині для інспектування флаконів (Seidenader Maschinenbau GmbH, Німеччина). Флакони вручну подають у завантажувальний бункер, звідки вони передаються в зону перевірки.

Після перегляду відбирають необхідну для аналізу проміжної продукції кількість флаконів, при отриманні позитивного заключення контролю проміжного продукту після фасування, флакони маркують.

**Стадія 7. Маркування та пакування.** Процес маркування (етикетування) виконують на машині для етикетування (Willett, США). Кожну одиницю споживчої тари маркують етикеткою, виконаною типографським способом, згідно затвердженого графічного макету. Етикетка має бути наклеєна рівно, без перекосів, зморшок. На етикетку наноситься інформація про номер серії та термін придатності. Промарковану продукцію за допомогою автоматів (MARCHESINI, Італія) упаковують у вторинну упаковку (пачки з інструкціями до медичного

застосування), групову тару (коробки) та передають готову продукцію у приміщення карантинного зберігання.

Проводять контроль продукції за всіма показниками специфікації для контролю якості готового продукту.

### 3.6 Контроль якості готового продукту

Контроль якості ГЛЗ у формі ліофілізованого порошку згідно з монографією ЕР на лікарську форму здійснюється за критеріями, наведеними у табл. 3.5.

Таблиця 3.5 – Специфікація для контролю якості готового продукту

№	Показник якості	Допустимі межі		Методики контролю
		На момент випуску	На термін придатності	
1	Опис	Суха пориста маса у вигляді цільної таблетки світло-жовтого кольору		Візуально
2	Ідентифікація	А. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння В. Має витримувати випробування ідентифікації на хлорид-іони		Згідно ЕР*, 2.2.29  Згідно ЕР*, 2.3.1, хлориди (а)
3	Супровідні домішки Ідентифіковані А. 6-епідоксициклін В. Метациклін С. 4-епідоксициклін D. 4,6-епідоксициклін Е. окситетрациклін F. 2-ацетил-2-декарбамоїлдоксициклін Неідентифіковані (кожної домішки) Сума домішок	А, В. Не більше 2,0% С, D, E, F. Не більше 0,5%  Не більше 0,5%	А,В. Не більше 2,5% С, D, E, F. Не більше 1,0%  Не більше 1,0 %  Не більше 3,5%	Згідно ЕР*, 2.2.29

№	Показник якості	Допустимі межі		Методики контролю
		На момент випуску	На термін придатності	
4	Час розчинення	Не більше 1 хвилини		Візуально
5	pH розчину (20 мг/мл)	Від 1,8 до 3,3		Згідно ЕР*, 2.2.3
6	Прозорість розчину	Має бути прозорим		Згідно ЕФ*, 2.2.1
7	Кольоровість розчину	Не більше 0,07 при довжині хвилі 490 нм		Згідно ЕФ*, 2.2.25
8	Механічні включення	Практично вільний від невидимих часток		Згідно ЕФ*, 2.9.19
	Невидимі частки	Не містить видимих механічних включень		Згідно ЕФ*, 2.9.20
9	Середня маса	Від 0,104 до 0,127 г		Згідно ЕР*, 2.9.5
10	Однорідність дозованих одиниць	Для 10 дозованих одиниць відхилення не більше 15%		Згідно ЕР*, 2.9.40
11	Вода	Не більше 3,0%		Згідно ЕР*, 2.5.12
12	Кількісне визначення			Згідно ЕР*, 2.2.29
	Доксициклін	Від 0,095 до 0,105 г	Від 0,090 до 0,110 г	
	Натрію сульфат	Від 0,54 до 0,66 мг	Від 0,54 до 0,66 мг	
	Динатрію едетат	Від 0,018 до 0,022 мг	Від 0,018 до 0,022 мг	
13	Бактеріальні ендотоксини	Не більше 1,14 МО/мг		Згідно ЕР*, 2.6.14
14	Стерильність	Має бути стерильним		Згідно ЕР*, 2.6.1
15	Аномальна токсичність	Не спричиняє гибелі лабораторних тварин протягом 24 годин		Згідно ЕР*, 2.6.9

Примітка: \* - діюче видання.

Після отримання належних показників при проведенні аналітичного контролю якості ГЛЗ уповноваженою особою ВЗЯ підписується сертифікат на дозвіл продукції до реалізації, препарат переміщують з приміщення для карантинного зберігання на склад готової продукції, де він перебуває до відправки на склад дистриб'ютора або аптечної мережі.

### 3.7 Управління ризиками для якості

З метою забезпечення стабільного виробництва якісних ГЛЗ відділом забезпечення якості фармацевтичного підприємства, за участі представників суміжних відділів (розробників, аналітиків, інженерів), здійснюється періодичне аналізування потенційних ризиків, що можуть впливати на критичні точки процесу, якісні та кількісні характеристики продукції.

Для візуалізації і систематизації потенційних ризиків розробленого ЛЗ побудовано діаграму Ішикави (рис. 3.3), яка наочно представляє ключові зв'язки між факторами впливу і можливими наслідками, а також, ієрархію важливості окремих груп чинників у загальній системі забезпечення якості продукту.

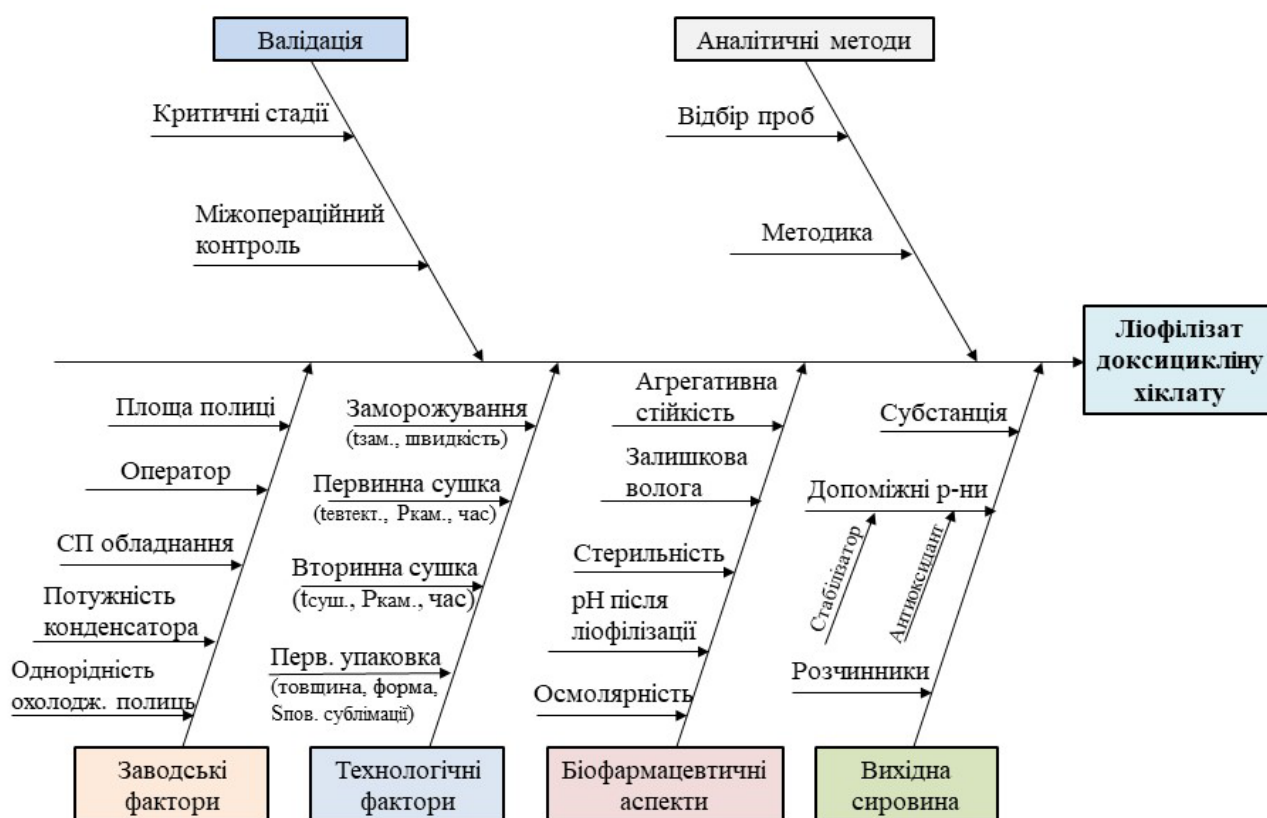


Рисунок 3.3 – Діаграма Ішикави отримання ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом

До факторів впливу на якість розробленої композиції належать: вихідна сировина, особливості технології, біофармацевтичні і заводські чинники, а також валідація виробничого процесу та АМК.

Основний вплив на характеристики ГЛЗ здійснюють два взаємопов'язаних чинники – допоміжні речовини та технологічні параметри. Так, від вмісту і виду

речовин залежить підбір режимів заморожування та ліофільного висушування, стан АФІ та взагалі можливість отримання продукту за такою технологією [45]. Окрім того, стабільності отриманої композиції безпосередньо впливає на її біофармацевтичні характеристики (рН, осмолярність, стерильність та ін.), які є критично важливими при введенні кінцевої ЛФ (розчину для інфузій) до системного кровотоку.

Отже, процедура підготовки, стадії і операції виробничого процесу мають здійснюватись у чіткій послідовності та піддаватись рутинному контролю за принципами та правилами GMP. Фактори, що вважаються потенційно небезпечними, усувають або вживають заходів з метою мінімізації ризиків для якості ГЛЗ за допомогою процедури CAPA (коригувальні та запобіжні дії).

### **3.8 Валідація технологічного процесу**

Для документального гарантування відповідності систем, процесів, АМК та персоналу, який реалізує та забезпечує функціонування виробництва, своєму призначенню, необхідно здійснити процедуру валідації технології виготовлення ліофілізованого порошку.

На основі даних фармацевтичної розробки та аналізу ризиків для якості розроблено валідаційний мастер-план для технологічного процесу виробництва ліофілізату для ін'єкцій.

Планування процедури проведено з урахуванням вимог та рекомендацій наступних нормативних документів:

1. Державна Фармакопея України [5];
2. СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2020 «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» [16];
3. СТ-Н МОЗУ 42-3.4:2020 «Лікарські засоби. Настанова з виробництва готових лікарських засобів» [17].
4. СТ-Н МОЗУ 42-3.5:2016 «Лікарські засоби. Валідація процесів» [15];
5. СТ-Н МОЗУ 42-01-2003 «Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація» [18];

6. СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8)» [20];
7. СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011 «Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9)» [19];
8. СТ-Н МОЗУ 42-4.3:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10)» [21].

### **Політика з валідації**

Протягом усього життєвого циклу ЛЗ на фармацевтичному підприємстві буде здійснюватись валідація ТП. Завдання валідації виконуються для забезпечення виробництва якісних, ефективних та безпечних ліофілізатів.

Для проведення валідації планується застосувати комбінований підхід (до плану входить поєднання традиційної валідації на 3 послідовних дослідно-промислових серіях з постійною верифікацією процесу на критичних стадіях, де контроль здійснюється at-line та in-line). Також проводитиметься ревалідація періодично та при внесенні змін до процесу чи обладнання.

Об'єм валідації: препарат Доксидикліну хіклат, ліофілізат для приготування розчину для внутрішньовенних ін'єкцій по 100 мг.

Місце проведення: дільниця з виробництва стерильних ліофілізатів.

Усі дії з валідації процесу, приміщень, систем, АМК та кваліфікації обладнання будуть виконуватись відповідно до встановленої нормативної документації, що є актуальною та прийнятою в Україні, процедур, які діють на підприємстві, розробленого та затвердженого Валідаційного майстер-плану.

### **Організаційна структура діяльності з валідації**

Так як об'єм валідаційних робіт є достатньо обширним, на підприємстві буде сформована та наділена повноваженнями Комісія з валідації, основним завданням якої є управління взаємопов'язаними роботами та випробуваннями в процесі проведення процедури.

*Відповідальності членів комісії*



1. Розробка Валідаційного мастер-плану: керівник відділу валідації, уповноважена особа з якості, керівники технологічного відділу і ВКЯ.
2. Розробка протоколів по окремих валідаційних проектах:
  - кваліфікації дизайну, установки, функціонування, експлуатації обладнання (ваги, реактор, ліофільна сушарка, установка стерильної фільтрації, автоматична лінія розливу та укупорки флаконів, автомат для маркування та пакування) – головний інженер;
  - валідації критичних стадій (приготування і стерилізуючої фільтрації розчину, наповнення флаконів, ліофілізація, укупорка флаконів) – начальник технологічного відділу/керівник дільниці №1;
  - методів контролю – аналітики ВКЯ;
  - валідації очистки та підготовки чистих приміщень (класи чистоти А і В) – аналітики та мікробіологи ВКЯ, інженерні служби, метролог;
  - валідації комп'ютерних, допоміжних систем (з виробництва стерильних ЛЗ), водо-, повітряпідготовки – інженерні служби.
3. Робота з валідації: ТП – інженерні служби і співробітники технологічного відділу, аналітичних методик – працівники ВКЯ.
4. Підготовка звітів і документації, контроль за документацією: керівник відділу забезпечення якості та особа, яка склала документ.
5. Затвердження протоколів і звітів: керівництво (уповноважена особа з якості, начальник відділу валідації, технологічного відділу та ВКЯ).
6. Розробка системи позначення посилань та їх перегляд: співробітники відділу реєстрації/стандартизації.
7. Навчання персоналу, який задіяний у проведенні валідації: співробітник відділу управління персоналом.

**Обґрунтування проведення валідації для технологічного процесу виробництва Доксицикліну хіклату, ліофілізату для приготування ін'єкцій**

Згідно принципів та правил GMP валідації піддається: технологічний процес виробництва ЛЗ, в тому числі окремі, в першу чергу критичні стадії, для забезпечення документального підтвердження адекватності ТП за встановленими

показниками якості та можливості отримання якісної продукції. Критичними стадіями є: приготування і фільтрація розчину, наповнення та передупорка флаконів, ліофілізація й доупорювання, вальцювання та інспектування ПП.

Якщо на виробничій лінії, котра валідується, заплановано виготовлення обширного асортименту ЛФ, то процедуру буде проведено при моделюванні умов «найгіршого випадку».

### **Опис специфічних процесів**

Обладнання, що використовується на стадії заморожування та ліофілізації (ліофільна сушарка) має бути провалідованим, програмне забезпечення повинно перевірятись. Проводиться кваліфікація дизайну, установки, функціонування та експлуатації.

Критичними показниками є режим заморожування, величина тиску у сушарці, її герметичність при проведенні сублімаційного висушування в умовах вакууму, від перелічених чинників залежить величина та форма кристалів.

Від придатності установки залежить основна частина процесу виготовлення препаратів антибіотиків, тому цей етап потребує проведення ревалідації з більшою частотою.

### **Перелік препаратів, процесів, систем, що валідуються**

Препарат: Доксицикліну хіклат, ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій по 100 мг.

Об'єкти валідації:

- Технологічний процес виробництва ліофілізованого порошку (валідація критичних стадій та операцій);
- Обладнання, використовуване у технологічному процесі виготовлення ліофілізату, а також контролю його якості та зберігання (кваліфікація дизайну, установки, функціонування та експлуатації);
- Приміщення, в яких проходить технологічний процес, здійснюється контроль якості, а також зберігається вихідна сировина, пакувальні матеріали та кінцеві продукти виробництва;

- Системи (підготовки повітря, води, електропостачання);
- Аналітичні методики ВКЯ на розроблений ЛЗ (та валідація очистки);
- Комп'ютеризовані системи (програмне забезпечення, автоматизація).

### Основні критерії прийнятності

#### Критерії OQ (приміщення):

- кількість часток в стані спокою;
- різниця тиску між класами чистоти у стані спокою (10-15 Па);
- перепад тиску в чистих зонах (3-5 Па);
- температура (взимку  $20 \pm 2$  °С, влітку  $24 \pm 2$  °С).

#### Критерії по PQ:

- ефективність експлуатації устаткування;
- відтворюваність показників під час процесу.

#### Критерії IQ:

- правильність установки апарату;
- відповідність сертифікатів, повнота документації виробника та постачальника.

Критерії прийнятності для показників процесу та якості ліофілізату з доксицикліну хіклатом наведено у табл. 3.6.

Таблиця 3.6 – Критерії прийнятності для показників технологічного процесу та якості розробленого препарату

Стадія	Контрольований показник	Критерій прийнятності
Приготування розчину	Час перемішування	$45 \pm 5$ хв
	Швидкість обертання мішалки	$80 \pm 1$ об/хв
	Прозорість	Прозорий розчин
	Кольоровість	Не більше 0,07 при 490 нм
	Однорідність	Однорідний розчин
	pH (20 мг/мл)	1,8-3,3
Фільтрування	Швидкість фільтрування	8 л/хв
	Тиск фільтрації	0,82 МПа
	Цілісність фільтрів	Відсутні розриви
	Наявність видимих механічних включень	Відсутні
Стерилізуюча	Швидкість фільтрування	6 л/хв

Стадія	Контрольований показник	Критерій прийнятності
Фільтрація	Тиск фільтрації	0,7 МПа
	Наявність механічних включень (видимих та невидимих)	Відсутні
	Відсутні розриви	Цілісність фільтрів
	Стерильність	Стерильний
Наповнення та передупорка	Швидкість наповнення	350 фл./хв
	Однорідність дозування	1±0,03 мл
	Об'єм, що витягається	Не менше 1 мл
Ліофілізація та доупорка гумовими пробками	Час заморожування	60±1 хв
	Швидкість досягнення необхідного темп. режиму	35±1 хв
	Швидкість досягнення тиску	25±1 хв
	Опис	Суша пориста маса у вигляді цільної таблетки світло-жовтого кольору
	Час розчинення	Не більше 1 хвилини
Завальцювання флаконів	Швидкість обкатки	1200 фл./год.
	Герметичність флаконів	Мають бути герметичними
	Вода	Не більше 3%
	Середня маса	Від 0,104 до 0,127 г
	Однорідність дозованих одиниць	Для 10 дозованих одиниць відхилення не більше 15%
	КВ АФІ та антиоксидантів	Згідно СП на ГП
	Бактеріальні ендотоксини	Не більше 10 МО/мг
	Стерильність	Має бути стерильним
Маркування	Швидкість маркування	10 фл./хв
	Якість та правильність маркування етикетки та інструкції до медичного застосування	Країна, назва і адреса виробника, препарату українською та латинською мовами, вміст діючої речовини у мг, «Застосовувати за призначенням лікаря», «Зберігати в недоступному для дітей місці», умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, штрих-код, фармкод
	Якість друку	Написи чіткі, легко читаються
Пакування	Швидкість пакування	120 пачок/хв
	Швидкість картонування	60 коробок/год
	Якість та правильність маркування	Пачки цілі, акуратно склеєні, наявні номеру серії і терміну

Стадія	Контрольований показник	Критерій прийнятності
		придатності, напис шрифтом Брайля
	Якість друку	Написи чіткі, легко читаються
	Комплектність	Наявність 1 флакону, інструкції з мед. застосування

### **Форми ведення документації**

На підприємстві розробляються форми ведення документації з валідації, які буде затверджено для виробництва розробленого ГЛЗ. Перед проведенням – валідаційний протокол (форма А-101), на підставі виконаних дій і отриманих результатів керівником валідаційної групи оформлюється звіт (форма В-081).

### **Перелік стандартних робочих процедур**

Планується застосовувати діючі на підприємстві СОП, а також, в процесі виготовлення ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом, буде розроблено та впроваджено нові, характерні для даної технології, СОП.

### **План-графік проведення валідації**

План-графік буде містити інформацію щодо строків здійснення основних етапів та допоміжних проектів процедури, відповідальних осіб.

За необхідності планується навчання персоналу по проведенню валідації.

### **Контроль змін**

На підприємстві планується розробити офіційну систему контролю критичних змін для оцінки всіх нововведень, задіаних до обладнання, параметрів ТП, аналітичних методик (показників якості). Обов'язково проведитиметься ревалідація за окремим планом з валідації. Будь-які пропозиції щодо змін стосовно GMP, буде сформовано, перевірено та затверджено представниками відповідного департаменту, а після того відповідальною особою ВКЯ.

Після впровадження зміни буде здійснено оцінку перших серій ліофілізатів, вироблених або випробуваних після внесення зміни, продукцію вносять до програми прискореного вивчення стабільності та закладають в термостати.

### Висновок до розділу 3

1. Здійснено огляд та підбір устаткування для виготовлення розробленого ЛЗ. Специфічним обладнанням є установка вакуумної ліофільної сушки, запропоновано до експлуатації модель GLZY-15B, компанії Shanghai Pudong Freeze Drying Equipment Co., Ltd., Китай.
2. Прорахована виробничу рецептуру для виготовлення промислової серії препарату об'ємом 10 л.
3. Оформлений перелік вихідної сировини та матеріалів, необхідних при виробництві ліофілізованого порошку.
3. Розроблена технологічна схема виробництва Доксицикліну хіклату, ліофілізату для приготування ін'єкцій по 100 мг.
4. Розроблено специфікацію для контролю якості ГЛЗ.
5. Проведено аналіз ризиків щодо якості ліофілізованого порошку, матеріал візуалізовано за допомогою побудови діаграми Ішикави.
6. Розроблено валідаційний майстер-план.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. На основі аналізу наукових статей та патентів встановлено, що найбільш перспективним напрямом фармацевтичної розробки препаратів антибіотиків є препарати зі швидким досягненням максимальної біодоступності, наприклад, парентеральних лікарських форм, зокрема ліофілізованих порошків.

2. Здійснено аналіз ринку лікарських засобів щодо актуальності розробки ліофілізованого порошку для приготування розчину для внутрішньовенних ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату. Виявлено, що препарати у даній лікарській формі відсутні, є незначний асортимент таблеток та капсул.

3. В ході магістерського проекту підбрано оптимальний склад ліофілізованого порошку з доксицикліну хіклатом. Введення в рецептуру стабілізатора, антиоксиданта та застосування прийому освітлення розчину адсорбентом, дозволили отримати препарат у вигляді добре сформованої пористої маси, яка стійка до струшування, не містить сколів і інших дефектів.

4. Встановлено відсутність піноутворення при приготуванні розчину ліофілізованого порошку доксицикліну хіклату, розчин стабільний за показником «Кольоровість» при прискореному режимі зберігання.

5. Проведено дослідження *in vitro* бактеріостатичної дії та МІК, в результаті яких було підтверджено еквівалентність протимікробної активності розробленого ліофілізату відносно препарату порівняння – твердих желатинових капсул «Доксициклін-Дарниця», вміст діючої речовини у обох лікарських засобах становить 100 мг.

6. Препарат витримує випробування за показником «Стерильність», дослідження *in vivo* пірогенності та аномальної токсичності підтверджують безпечність при введенні до системного кровообігу. Протягом 72 годин після дослідження не виявлено летальних випадків у лабораторних тварин. Температура тіла кролів залишилась в межах норми.

7. Розроблено технологічну схему, специфікацію для контролю готового препарату, перелік вихідної сировини, матеріалів, виробничу рецептуру, опис

технології виробництва ліофілізованого порошку з зазначенням критичних параметрів та стадій процесу.

8. Здійснено аналіз ризиків щодо якості виробництва ліофілізованого порошку, визначено основні причинно-наслідкові зв'язки та ієрархію потенційно небезпечних факторів, які представлено на діаграмі Ішикави.

9. Проведено планування перспективної валідації технологічного процесу, розроблено валідаційний майстер-план.

Результатом магістерської роботи є розробка ефективного генеричного лікарського засобу – ліофілізату для приготування ін'єкцій на основі доксицикліну хіклату, який має виражену бактеріостатичну активність відносно збудників інфекційних захворювань людини та забезпечує швидку доставку антибіотика до системного кровотоку, високий показник біодоступності порівняно з повільним вивільненням та всмоктуванням пероральних форм.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алмакаєва Л. Г. Мембранно-мікроскопічний контроль механічних включень у парентеральних лікарських засобах / Л. Г. Алмакаєва, В. Г. Доля // Фармац. журн. – 2011. – №5. – С. 24-29.
2. Баглай, Т. О. J01AA Тетрацикліни: дослідження госпітального сегменту фармацевтичного ринку України та аналіз споживання у 2016-2019 роках / Т. О. Баглай, Л. В. Яковлєва // Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. - Харків : Вид-во НФаУ, 2020. - С. 58-61.
3. БД DrugBank [Електронний ресурс] // Режим доступу: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00254>.
4. Гой А.М. Науково-практичні підходи до мінімізації ризиків перехресної контамінації в умовах сумісного виробництва парентеральних лікарських засобів / Гой А.М., Посилкіна О.В., Деренська Я.М. // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2017. – Т. 3, № 3. – С.49-57. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.17.88>.
5. Державна Фармакопея України: в 3т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
6. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]: / Міністерство охорони здоров'я України; Управління лікарських засобів та медичної продукції; Державний експертний центр МОЗ України. – Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua>.
7. Доксицикліну хіклат // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 2. — С. 214-216.

8. Доля В. Г. Контроль невидимых механических включений в лекарственных средствах для парентерального применения: изменения в статье Государственной Фармакопеи Украины / В. Г. Доля, Е. К. Товмасын, А. И. Гризодуб, В. П. Георгиевский// Фармаком. – 2005. – №1. – С. 39-43.
9. Закон України від 08.08.2021 р. № 123/96-ВР “Про лікарські засоби” [Електронний курс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80#Text>.
- 10.Здрайковська М. В. Випробування на стерильність і аномальну токсичність поліелектролітних інфузійних розчинів "Глютацин" і "Сорбіцин" / М. В. Здрайковська, Т. В. Торхова // Запорозж. мед. журн. - 2011. - Т. 13, N 2. - С. 62-63.
- 11.Каталог продукції "Jinan Youlyu Industrial Co. Ltd." [Електронний ресурс]. – 2021. – Режим доступу: <https://www.vialbottle.com/products>.
- 12.Качапут О. І., Гурєєва С. М., Гой А. М. Особливості фармацевтичної розробки нових генеричних лікарських препаратів у формі суспензій для ін'єкцій на прикладі препарату Бетаспан депо (Депос) // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2017. – Т. 10, №2(24) doi: 10.14739/2409-2932.2017.2.103822.
- 13.Компендиум 2018 – лекарственные препараты / под ред. В.Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2018. – 2240 с.
- 14.Кузьміна Г.І. Сучасні тенденції забезпечення якості продукції на підприємствах фармацевтичної промисловості/Кузьміна Г.І., Строкань А.П. // Вісник Хмельницького національного університету №3 2013, С. 144-146.
- 15.Лікарські засоби. Валідація процесів: Настанова СТ–Н МОЗУ 42-3.5:2016 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 29.07.2016 р. № 802]. – К.:МОЗ України, 2016. – 34 с.
- 16.Лікарські засоби. Належна виробнича практика: Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2020 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 04.05.2016 р. № 1023]. – К.:МОЗ України, 2020. – 44 с.

17. Лікарські засоби. Настанова з виробництва готових лікарських засобів: Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.0:2020 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 07.0.2020 р. № 1077]. – К.:МОЗ України, 2020. – 52 с.
18. Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація: Настанова СТ–Н МОЗУ 42-01-2003 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 13.03.2003 р. № 107]. – К.:МОЗ України, 2003. – 45 с.
19. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9): Настанова СТ–Н МОЗУ 42-4.2:2011 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 03.10.2011 р. № 634]. – К.:МОЗ України, 2012. – 58 с.
20. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): Настанова СТ–Н МОЗУ 42-3.0:2011 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 03.10.2011 р. № 634]. – К.:МОЗ України, 2011. – 49 с.
21. Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10): Настанова СТ–Н МОЗУ 42-4.3:2011 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 03.10.2011 р. № 634]. – К.:МОЗ України, 2012. – 34 с.
22. Лікарські засоби. Якість води для застосування у фармацевції: Настанова СТ–Н МОЗУ 42-3.7:2013 [затверджена наказом Міністерства охорони здоров'я України від 18.05.2013 р. № 398]. – К.:МОЗ України, 2013. – 5 с.
23. Настанова 42-3.3:2004 Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла та ін. – Київ, МОЗ України, 2004. – 60 с.
24. Некрасова Л. С. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки. / Л. С. Некрасова, В. М. Свита, Т. Г. Глушкевич та ін. // МВ 9.9.5 – 143-2007 К., 2007, 74с.
25. Пат. CN101069690A, IPC A61K31/65. Doxycycline Hyclate lipid gels and preparing method // Jin Honglai Lu. [Електронний курс] – Режим доступу: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/038897207/publication/CN101069690A?q=prn%3DCN101069690A>.

26. Пат. CN101537010A, IPC A61J3 / 00. Eyedrop preparation and preparation method thereof // Chuanbin Wu, Dan Liang, Zixin He. [Электронный курс] – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/041120551/publication/CN101537010A?q=pn%3DCN101537010A>.
27. Пат. CN107837241A, IPC A61K31/65. Doxycycline hydrochloride microcapsule and preparation method thereof // Fang Daxue, Gao Shuiju, Guo Pingxia and ect. [Электронный курс] – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/061682363/publication/CN107837241A?q=pn%3DCN107837241A>.
28. Пат. CN109568262A IPC A61K31/65. Doxycycline temperature-sensitive in situ gel uterus perfusion fluid and preparation method thereof // Hu Daxing, Hua Chengyun, Huang Xianhui and ect. [Электронный курс] – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/065916018/publication/CN109568262A?q=pn%3DCN109568262A>.
29. Пат. CN109846934A IPC A23K10/30. Eucalyptus oil doxycycline hydrochloride self-microemulsion for livestock and preparation method and application of eucalyptus oil doxycycline hydrochloride self-microemulsion // Du Liubao, Feng Yunyun, Geng Naoyu and ect. [Электронный курс] – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/066890200/publication/CN109846934A?q=doxycycline%20emulsion>.
30. Пат. CN110664744A IPC A61K31/65. Doxycycline hydrochloride solution and preparation method thereof // Jiang Yihai, Lin Yang, Liu Yuanyuan and ect. [Электронный курс] – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/069085810/publication/CN110664744A?q=pn%3DCN110664744A>.
31. Практикум по биофармации: Учеб. Пособие для студентов вузов /А. И. Тихонов, Е. Е. Богуцкая, Т.Г. Ярных и др.; Под.ред. А.И. Тихонова. — Харьков: Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2003. — 96 с.
32. Салій О. О. Лікарські форми та сучасні шляхи доставки доксицикліну хіклату / О. О. Салій, Г. Г. Куришко, А. Ю. Гончарук // Проблеми та досягнення сучасної біотехнології : матеріали I міжнародної науково-практичної Інтернет-

- конференції, м. Харків, 25 березня 2021 року. – Харків : НФаУ, 2021. – С. 301-302.
- 33.Салій О.О. Порівняльні дослідження профілів вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул при зміні виробників діючої речовини / О. О. Салій, Г. Г. Куришко, З.О. Огеренко, О. В. Гетало // Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Серія Технічні науки. – 2020. – № 3 (146). – С. 165-174. doi: 10.30857/1813-6796.2020.3.14.
- 34.Смойловська Г. П., Малюгіна О. О., Мазулін О. В. Фармацевтична технологія : навчальний посібник для самостійної роботи провізорів передатестаційного циклу підвищення кваліфікації за спеціальністю «Загальна фармація». Ч. 2 / Г. П. Смойловська, О. О. Малюгіна, О. В. Мазулін. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. – 120 с.
- 35.СТ-Н МОЗУ 42-8.1:2013. «Настанова. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка біотехнологічних та біологічних продуктів ». – Київ. – МОЗ України. – 2013. – 35 с.
- 36.Тишков С.Ю., К.В. Алексєєв К.В., Блинська Є.В. Теоретичні і практичні основи ліофілізації лікарських препаратів. – 2019. – С.15-46.
- 37.Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків : навч. посіб. для студ., магістрів, аспірантів, викладачів, наук. співробітників та спеціалістів фармації / І. В. Перцев [та ін.]; за ред. І. М. Перцева. - Вид. 2-ге, перероб. та доп. - Вінниця : Нова Книга, 2007. - 641 с.
- 38.Чуєшов В.І. Технологія ліків промислового виробництва // Чуєшов В.І., Хохлова Л.М., Ляпунова О.О. та ін. – Харків, 2003. – С. 86 – 94, Дмитрієвський Д.І., Богуславська Л.І., Хохлова Л.М., та іш. Технологія лікарських препаратів промислового виробництва – Вінниця: Нова Книга, 2008, 277 с.
- 39.Чушенко В. М. Удосконалення складу і розробка екстемпоральної технології песаріїв із доксицикліном хіклатом на основі масла какао / В. М. Чушенко, Т. Г. Ярних, О. А. Рухмакова, Г. Б. Юр'єва// Фармацевтичний часопис, 2020. - №1. – С.1-7. doi: 10.11603/2312-0967.2020.1.10979.

40. Яковлева, Л. В. Тетрацикліни: аналіз фармацевтичного ринку України та споживання у порівнянні з країнами Європи / Л. В. Яковлева, Т. О. Баглай // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2020. – Т. 6, № 1. – С. 60–68. doi: 10.24959/sphhcj.20.174.
41. Agranat, I., & Caner, H. (1999). Intellectual property and chirality of drugs. *Drug Discovery Today*, 4(7), 313–321. doi:10.1016/s1359-6446(99)01363-x.
42. Akers, M.J. (2010). *Sterile Drug Products: Formulation, Packaging, Manufacturing and Quality* (1sted.). CRC Press. <https://doi.org/10.3109/9781420020564>.
43. Ali, I., Alfarouk, K. O., Reshkin, S. J., & Ibrahim, M. E. (2017). Doxycycline as Potential Anti-cancer Agent. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 17(12), 1617–1623. <https://doi.org/10.2174/1871520617666170213111951>.
44. Aseptic Manufacturing. A Roadmap to Excellence [Електронний ресурс] // PutmanMedia – Режим доступу: [https://www.pharmamanufacturing.com/assets/wp\\_downloads/pdf/dpt.pdf](https://www.pharmamanufacturing.com/assets/wp_downloads/pdf/dpt.pdf).
45. Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseyev K.V., Minaev S.V. Features pharmaceutical development lyophilisate GK-2 for parenteral use // *Russian Journal of Biotherapy*, 2019. - Vol.17. - Issue 4. - PP. 81-90. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2018-17-4-81-90>.
46. Budniak L. I., Darzuli N. P. (2020). Comparative analysis of medications for antibiotic therapy of chronic obstructive pulmonary disease in the pharmaceutical market of Ukraine and France. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 3(34), 401-406. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216223>.
47. Childs, Scott L.; Chyall, Leonard J.; Dunlap, Jeanette T.; Smolenskaya, Valeriya N.; Stahly, Barbara C.; Stahly, G. Patrick (2004). Crystal Engineering Approach To Forming Cocrystals of Amine Hydrochlorides with Organic Acids. Molecular Complexes of Fluoxetine Hydrochloride with Benzoic, Succinic, and Fumaric Acids. *Journal of the American Chemical Society*, 126(41), 13335–13342. doi: 10.1021/ja048114o.
48. Christ, A. P., Biscaino, P. T., Lourenço, R. L., de Souza, A. B., Zimmermann, E. S., & Adams, A. (2020). Development of doxycycline hyclate suppositories and

- pharmacokinetic study in rabbits. *European journal of pharmaceutical sciences* : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, 142, 105141. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019>.
49. Cocrystal Screening, Selection, and Formulation [Электронный ресурс] – Режим доступа до ресурсу: <https://tricliniclabs.com/page-directory/solid-state-development-services/cocrystal-screening-selection-formulation-for-property-improvement-from-triclinic-labs.html>.
50. COVID-19 rapid guideline: managing suspected or confirmed pneumonia in adults in the community (NG165). NICE guideline. Published: 3 April 2020/ [www.nice.org.uk/guidance/ng165](http://www.nice.org.uk/guidance/ng165). [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng165/resources/covid19-rapid-guideline-managing-suspected-or-confirmed-pneumonia-in-adults-in-the-community-pdf-66141902429125>.
51. Deo V, Ansari S, Mandia S, Bhongade M. Therapeutic Efficacy of Subgingivally Delivered Doxycycline Hyclate as an Adjunct to Non-surgical Treatment of Chronic Periodontitis. *J Oral Maxillofac Res.* 2011 Apr 1;2(1):e3. doi: 10.5037/jomr.2011.2103.
52. European Pharmacopoeia 10.0 Doxycycline hyclate 01/2017:0272 corrected 10.0 - p. 2472.
53. European Pharmacopoeia 10.0 Online // URL: <http://online.edqm.eu>.
54. European Pharmacopoeia revises general chapter on degree of coloration of liquids [Электронный ресурс] // European Directorate for the Quality of Medicines. – 2020. – Режим доступа до ресурсу: <https://www.edqm.eu/en/news/european-pharmacopoeia-revises-general-chapter-degree-coloration-liquids>.
55. Fissore, D., & McCoy, T. (2018). Editorial: Freeze-Drying and Process Analytical Technology for Pharmaceuticals. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 6). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00622>.
56. Fissore, D., Pisano, R., & Barresi, A. A. (2018). Process analytical technology for monitoring pharmaceuticals freeze-drying – A comprehensive review. In *Drying*

- Technology (Vol. 36, Issue 15, pp. 1839–1865). Informa UK Limited.  
<https://doi.org/10.1080/07373937.2018.1440590>.
57. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. / World Health Organization. Switzerland, Geneva, 2015. P. 28. URL: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763\\_eng.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763_eng.pdf?sequence=1) (date of access: 11.01.2020).
58. Gueders, M. M., Bertholet, P., Perin, F., Rocks, N., Maree, R., Botta, V., Louis, R., Foidart, J. M., Noel, A., Evrard, B., & Cataldo, D. D. (2008). A novel formulation of inhaled doxycycline reduces allergen-induced inflammation, hyperresponsiveness and remodeling by matrix metalloproteinases and cytokines modulation in a mouse model of asthma. *Biochemical pharmacology*, 75(2), 514–526. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.09.012>.
59. Gugleva, V., Titeva, S., Rangelov, S., & Momekova, D. (2019). Design and in vitro evaluation of doxycycline hyclate niosomes as a potential ocular delivery system. *International journal of pharmaceutics*, 567, 118431. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.06.022>.
60. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sixth edition. Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Marian E. Quinn. / Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association 2009. – p.9017. ISBN 978 1 58212 135 2.
61. Hidenori Kawasaki, Toshinori Shimanouchi, Yukitaka Kimura, "Recent Development of Optimization of Lyophilization Process", *Journal of Chemistry*, vol. 2019, Article ID 9502856, 14 pages, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9502856>.
62. Holmes N.E., Charles P.G.P. Safety and efficacy review of doxycycline // *Clin. Med. Ther.*, 1 (2009), PP. 471-482, Schroeder C., Chowdhury I., Narra H., Patel J., Sahni A., Sahni S. (2016). Human Rickettsioses: Host Response and Molecular Pathogenesis. In: Thomas S. (eds) *Rickettsiales*. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-46859-4\_19.
63. ICH Q1A (R2) Stability testing of new drug substances and drug products: Note for Guidance on Stability Testing. CPMP/ICH/2736/99, 2003.



64. Izutsu K. I. (2018). Applications of Freezing and Freeze-Drying in Pharmaceutical Formulations. *Advances in experimental medicine and biology*, 1081, 371–383. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1\\_20](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1244-1_20)
65. Javali, M. A., & Vandana, K. L. (2012). A comparative evaluation of atrigel delivery system (10% doxycycline hyclate) Atridox with scaling and root planing and combination therapy in treatment of periodontitis: A clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(1), 43–48. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.94603>
66. Jutglar M., Foradada M., Caballero F., Hoogmartens J., Adams E. (2018). Influence of the solvent system on the stability of doxycycline solutions. / *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 159. - Pages 60-65. doi: 10.1016/j.jpba.2018.06.054.
67. Khairnar S., Kini R., Harwalkar M., Chaudhari S.R., A Review on Freeze Drying Process of Pharmaceuticals, *International Journal of Research in Pharmacy and Science*, 2014 Jan 1;4(1).
68. Kumar D.R., Vasanth P.M., Ramesh T., Ramesh M. Formulation and Evaluation of Lyophilized Antibacterial Agent // *International Journal of PharmTech Research*, 2013. - Vol.5. - Issue 4. - PP. 1581-1589. URL: [http://www.sphinxesai.com/2013/OD/PharmOD13/pdfphamOD2013/PT=18\(1581-1589\)OD13.pdf](http://www.sphinxesai.com/2013/OD/PharmOD13/pdfphamOD2013/PT=18(1581-1589)OD13.pdf).
69. Large Volume Wearable Injectors Market (5th Edition), 2020-2030: Focus on Bolus, Basal and Continuous Delivery Devices, Research and Markets, July 24, 2020, <https://www.globenewswire.com/news-release/2020/07/24/2067186/0/en/Global-Large-Volume-Wearable-Injectors-Market-Outlook-to-2030-with-Competitive-Analysis-on-400-Players.html>.
70. Liapis and R. Bruttini: A theory for the primary and secondary drying stages of the freeze drying of pharmaceutical crystalline and amorphous solutes: comparison between experimental data and theory. *Sep. Technol*, issue 4, pp. 144-155, (1994).
71. Palchevska, T. A., Saliy, O. O., Baula, O. P., & Palchevskiy, K. V. (2020). Меглюмін та його солі: властивості та перспективи використання у фармації. *Фармацевтичний часопис*, (2), 92–100. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.2.11194>.

72. Palchevska, T. A., Saliy, O. O., Baula, O. P., Palchevskyi K. V., & Onishchuk O. M. (2021). The role of excipients of trometamol and meglumine in the formation of biopharmaceutical properties of medicinal products of various pharmacites. *Farmatsevychnyi Zhurnal*, (4), 64-75. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.21.06>
73. Pradnya M.K., Bhushan B. and Saudagar R.B. Lyophilization Technique: A Review; *Asian J. Res. Pharm. Sci*;2016;6(4); 269-276.
74. Prefilled Syringes Drug Molecules Market, Prefilled Syringes Drug Molecules Market: Governmental Move to Increase Vaccination Coverage to Boost Market Revenue Growth During the Forecast Period: Global Industry Analysis (2012 – 2016) & Opportunity Assessment (2017 – 2027), Future Market Insights, <https://www.futuremarketinsights.com/reports/prefilled-syringes-drug-molecules-market>.
75. Prefilled Syringes Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, 2020-2027, Fortune Business Insights, <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/prefilled-syringes-market-101946>.
76. Preparation method of doxycycline hyclate freeze-dried powder injection application CN201510495924.8A China / Fang Zhengyuan, Jiang Qiang, Jin Tao ; applicant Hainan General Kang Li Pharmaceutical Co Ltd. – № 105078905; declared 13.08.2015.
77. Saliy O. O. Validation researches of the production process of the Glucose medicine infusion solution / O. O. Saliy, H. H. Kuryshko, A. S. Momotenko, T. A. Palchevska // *Bulletin of the Kyiv National University of Technologies and Design. Technical Science Series.* – 2019. - № 6 (140). - C. 58-70. doi:10.30857/1813-6796.2019.6.6.
78. Saliy, O. O., Los, O. V., Baula, O. P., & Matsiutsia, K. F. (2019). Development of the composition and production technology of injection medication for intra-articular introduction based on sodium hyaluronate. *Farmatsevychnyi Zhurnal*, (5), 75-85. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.19.08>.
79. Shivanand A., Mukhopadhyaya S., A Review on Lyophilization: A Technique to Improve Stability of Hygroscopic, Thermolabile Substances. *PharmaTutor*,2017, 5(11) 28-39.

80. Shukla S. Freeze Drying Process: a Review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2011 Dec. 1; 2(12):3061-8. [https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2\(12\).3061-68](https://doi.org/10.13040/ijpsr.0975-8232.2(12).3061-68).
81. Special Feature – PFS & Parenteral Manufacturing: How COVID-19 Changed the Market [Електронний ресурс] // *Drug Development & Delivery*. – 2021. – Режим доступу до ресурсу: <https://drug-dev.com/special-feature-pfs-parenteral-manufacturing-how-covid-19-changed-the-market/>.
82. Stahly, G. Patrick (2007). Diversity in Single- and Multiple-Component Crystals. The Search for and Prevalence of Polymorphs and Cocrystals. *Crystal Growth & Design*, 7(6), 1007–1026. doi:10.1021/cg060838j.
83. Stetsko, T.I., Muzyka, V., Ostrovska, L., & Butsyak, V. (2017). Антимікробна активність нового комбінованого антибактеріального препарату на основі флуорфеніколу та доксицикліну. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19, 125-130.
84. Teagarden D.L., Baker D.S. Practical aspects of lyophilization using non-aqueous co-solvent systems. *Eur J Pharm Sci*. 2002 Mar;15(2):115-33. doi: 10.1016/s0928-0987(01)00221-4. PMID: 11849908.
85. Van Arnum P. Market View: Parenteral Drugs [Електронний ресурс] / Patricia Van Arnum. – 2019. – Режим доступу: <https://www.dcatvci.org/features/inside-the-market-for-parenteral-drugs/>.
86. Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015 Apr; 40(4):277-83. PMID: 25859123; PMCID: PMC4378521.
87. Yates P.A., Newman S.A., Oshry L.J., Glassman R.H., Leone A.M., Reichel E. Doxycycline treatment of high-risk COVID-19-positive patients with comorbid pulmonary disease. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2020;14:1753466620951053. doi: 10.1177/1753466620951053. PMID: 32873175.

## **ДОДАТОК А**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

### **ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**Матеріали  
I міжнародної науково-практичної  
Інтернет-конференції**

**25 березня 2021 року  
Харків**

## Лікарські форми та сучасні шляхи доставки доксицикліну хіклату

Салій О.О., Куришко Г.Г., Гончарук А.Ю.

Кафедра промислової фармації Київського національного університету

технологій та дизайну, м. Київ, Україна

saliy.oo@knuud.edu.ua, allagon4aruk@meta.ua

Доксициклін - бактеріостатичний антибіотик широкого спектру дії, який застосовується для лікування інфекцій сечовивідних, дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту, та є препаратом першого вибору при кліщових захворюваннях, як хвороба Лайма та риккетсійних інфекцій. Для початкової терапії лікування пневмонії у періоди спалаху та розповсюдження коронавірусної хвороби COVID-19, пероральним антибіотиком першого вибору рекомендован доксициклін, оскільки він має більш широкий спектр дії, ніж амоксицилін. В даний час глобальне зростання резистентності збудників до широкого застосованих антибіотиків вимагає пошук нових шляхів та напрямків доставки лікарського засобу до місць розташування мікроорганізмів, що викликають захворювання. Метою досліджень було визначення способів доставки доксицикліну за наявності зареєстрованих та перспективних до розробки лікарських форм (ЛФ).

Встановлено, що різні форми солей доксицикліну працюють, блокуючи синтез білка, який перешкоджає росту бактерій. У таблиці 1 наведені дані щодо сольових форм та лікарських засобів з діючою речовиною доксициклін.

Таблиця 1. Асортимент зареєстрованих лікарських форм доксицикліну

Лікарська форма	Дозування	Торгова назва та виробник	Реєстрація в Україні
<b>Доксицикліну хіклат / Доксицикліну гідрохлорид</b>			
Порошок для р-н/ін'єкцій	100 мг	Vibramycin Inj (Pfizer)	Відсутня
Ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій	100, 200 мг	Doxy 100 (Fresenius Kabi)	Відсутня
	100, 200 мг	Doxycycline (Mylan Institutional, Zydus)	Відсутня
Таблетки, вкриті плівковою оболонкою	75, 150 мг	Acticlate (Aqua Pharmaceuticals)	Відсутня
Таблетки з відстроченим вивільненням	50, 75, 100, 150, 200 мг	Doryx (Mayne Pharma Group L.)	Відсутня
	100 мг	LymePak (Chartwell Pharmaceuticals)	Відсутня

Гранули з відстроченим вивільненням	75, 100 мг	Doryx (Mayne Pharma Group L.)	Відсутня
Капсули желатинові тверді	100 мг	Доксициклін-Дарниця (ПрАТ «Дарниця»)	Так
	100 мг	Доксициклін (ПАТ НВЦ Борщагівський ХФЗ)	Так
	50, 75, 100 мг	Monodox (Aqua Pharmaceuticals)	Відсутня
	100 мг	Vibramycin Cap (Pfizer)	Відсутня
Капсули з відстроченим вивільненням	75, 100 мг	Doryx (Mayne Pharma)	Відсутня
	40 мг	Oracea (Group Limited)	Відсутня
Капсули желатинові тверді	100 мг	Doxicip-100 (Cipla Limited)	Відсутня
Ліофілізат для приготування розчину для інфузій	100, 200 мг	Доксициклін-Ферейн (ПАТ «Бринцалов-А»)	Відсутня
	100 мг	Відокцин (ПФК «Пребенд»)	Відсутня
<b>Доксицикліну моногідрат</b>			
Порошок для оральної суспензії	25 мг/5мл	Vibramycin (Pfizer)	Відсутня
Таблетки без оболонки	100 мг	Доксициклін-Тева (Teva Pharmaceutical Industries Ltd.)	Так
Таблетки дисперговані	100 мг	Юнідокс-Солютаб (Astellas Pharma Europe)	Так
	100, 200 мг	Vibramycin (Pfizer)	Відсутня
Сироп	50 мг/5 мл	Vibramycin Calcium (Pfizer)	Відсутня

На наступному етапі було здійснено огляд літератури на наявність нових шляхів доставки антибіотика, підсумки якого відображено в табл. 2.

Таблиця 2. Нові шляхи доставки та лікарські форми доксицикліну на етапі розробки

<i>Діюча речовина</i>	<i>Лікарська форма</i>
Доксицикліну хіклат / Доксицикліну гідрохлорид	Очні краплі, гель для зовнішнього застосування, гель для субінгвального застосування, песарії, інгаляційна доставка, мікрокапсули, розчин для ін'єкцій, емульсія
Доксицикліну моногідрат	Гель для зовнішнього застосування

Встановлено, що на ринку України асортимент ЛФ з доксицикліном дуже обмежений і представлений в основному твердими формами, як капсули і таблетки з негайним вивільненням. Пошук нових шляхів доставки доксицикліну є актуальним напрямом у фармації, а основна увага акцентується на розробці ЛФ зі швидкою та максимальною біодоступністю, як парентеральні лікарські засоби у формі ліофілізованих порошків.

## ДОДАТОК Б



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
 КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
 ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

вул. Немировича-Данченка, 2, м. Київ, 01011, тел./факс: 280-05-12, тел. 256-84-23  
 E-mail: knutd@knutd.edu.ua Web: http://www.knutd.edu.ua Код ЄДРПОУ 02070890

02.09.2024 № 05-05/1545

На № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_

Редакции

Научно-практического рецензируемого журнала

«Вестник фармации»

научный отдел

Направляем научную статью «Разработка и оценка лиофилизированного порошка для приготовления раствора для инъекций на основе доксициклина» Е.А. Салий, А.Ю. Гончарук, О.В. Гетало, А.В. Тарасенко, кафедры промышленной фармации факультета химических и биофармацевтических технологий Киевского национального университета технологий и дизайна для опубликования в научно-практическом рецензируемом журнале «Вестник фармации». Добавляем сопроводительные документы: направление от организации, экспертное заключение о возможности публикации в открытой печати, первую страницу статьи с распоряжением «В печать» и подписью ответственного лица, заверенные печатью учреждения.

Проректор по научной и  
 инновационной деятельности



Людмила ГАНУЩАК-ЕФИМЕНКО

УДК 615.014.24:615.076:615.33

**Е.А. Салий<sup>1</sup>, А.Ю. Гончарук<sup>1</sup>, О.В. Гетало<sup>2</sup>, А.В. Тарасенко<sup>1</sup>**  
**РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ПОРОШКА ДЛЯ**  
**ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ НА ОСНОВЕ ДОКСИЦИКЛИНА**

<sup>1</sup>Киевский национальный университет технологий и дизайна, г. Киев, Украина

<sup>2</sup>Киевский международный университет, г. Киев, Украина

*Ассортимент лекарственных средств доксициклина на фармацевтическом рынке Украины очень ограничен и представлен твердыми формами (капсулы и таблетки), тогда как быстрый эффект, и максимальную биодоступность препарата можно обеспечить при парентеральном способе введения. Объектом исследования является лекарственное средство доксициклина гиклат в форме лиофилизата для приготовления раствора для инъекций. При разработке препарата учитывали, что водный раствор доксициклина является рН зависимым и имеет тенденции к смещению рН раствора при длительном хранении. Поэтому в состав были введены такие вспомогательные вещества, как стабилизатор и антиоксидант, которые обеспечивают буферные свойства и стабильность раствора. По результатам исследований выбран оптимальный состав лиофилизированного порошка, разработана технология производства со стадией обработки раствора активированным углём, что позволило получить лиофилизированный порошок с хорошо сформированной пористой массой без сколов, изломов и трещин, устойчивый к встряхиванию, а приготовленный раствор для парентерального введения стабильный по показателю «Цветность» при ускоренном режиме хранения.*

*Установлено, что доксициклина гиклат в форме лиофилизата проявляет широкий спектр антибактериальной активности. Проведенные сравнительные исследования in vitro для двух лекарственных средств доксициклина гиклата в форме лиофилизата для приготовления инъекций и твердых желатиновых капсул по 100 мг доксициклина гиклата подтверждают эквивалентность их бактериостатического действия в отношении бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний человека.*

**Ключевые слова:** доксициклина гиклат, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, бактериостатическая активность, минимальная ингибирующая концентрация (МИК), тест-штаммы микроорганизмов.

## **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время глобальный рост резистентности возбудителей к широко используемым антибиотикам требует необходимости возврата к практике использования некоторых классических препаратов с сохраненной активностью по соответствующим показателям [1]. Доксициклин – бактериостатический антибиотик широкого спектра действия, который применяется для лечения инфекционных заболеваний мочевыводящих, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и является препаратом первого выбора при таких клещевых заболеваниях, как болезнь Лайма и риккетсиозные инфекции [2, 3]. В период распространения коронавирусной болезни COVID-19 для начальной терапии пневмонии пероральным антибиотиком первого выбора рекомендуется доксициклин, поскольку он является нетрадиционным антибиотиком с установленным профилем безопасности, потенциальной эффективностью в отношении вирусных возбудителей, таких как лихорадка денге и чикунгуния, и может регулировать пути, важные при начальной инфекции, репликации и системной реакции на тяжелый острый респираторный синдром SARS CoV-2 [4, 5].



На украинском фармацевтическом рынке ассортимент лекарственных препаратов на основе доксициклина гиклата очень ограничен и представлен только твёрдыми пероральными лекарственными формами – таблетками и капсулами, поэтому поиск альтернативных путей доставки доксициклина является актуальным направлением современных фармацевтических технологий [6]. Известно, что парентеральная терапия доксициклином показана только тогда, когда пероральная терапия не возможна, при этом дозировка и частота приёма доксициклина для инъекций (от 100 до 200 мг/день) отличается от других тетрациклинов (от 1 до 2 г/день) и соответствует дневной дозе при приёме оральных твёрдых форм [2]. Инъекционный путь введения исключает проблемы горького вкуса и замедленного высвобождения доксициклина, которые присутствуют при пероральном применении. Но водные растворы на основе доксициклина гиклата, приготовленные общепринятым способом, имеют проблемы со стабильностью при длительном хранении, а именно: изменение окраски препарата, сдвиг pH раствора, образование некоторых примесей, которые могут привести к возникновению токсических, побочных эффектов и составляют скрытую опасность для клинической практики [7]. Для обеспечения стабильности парентеральных лекарственных форм доксициклина актуальным направлением является разработка лиофилизированных порошков для инъекционного применения. Благодаря процессу сублимационной сушки можно достичь стабильной и быстрорастворимой формы доксициклина гиклата, а также обеспечить гарантированные качество и эффективность лекарственного средства.

Целью работы является разработка состава и оценка антибактериального действия лиофилизированного порошка для приготовления раствора для инъекций на основе доксициклина гиклата.

### ***МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ***

Разработку состава раствора для получения лиофилизата проводили с применением активного фармацевтического ингредиента (АФИ) доксициклина гиклата (ДГ) производства «Yangzhou Liberty Pharamceutical Co. Ltd.», Китай.

Поскольку в Украине отсутствуют зарегистрированные лекарственные средства в форме лиофилизированных порошков с ДГ, то для обоснования оптимального состава изучали литературные данные о коммерческих препаратах на рынках и при формировании матрицы составов анализировали рецептуры лекарственных средств DOXY 100<sup>TM</sup> (Fresenius Kabi LLC, США) и Доксициклин-Ферейн® (ОАО «Брынцалов-А», Россия).

При разработке состава лекарственной формы применяли вспомогательные вещества, которые выполняют функции стабилизаторов и регуляторов кислотности раствора для инъекций: натрия метабисульфит («Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH», Германия), трилон Б («Kirsch Pharma GmbH», Германия), калия метабисульфит («Shandong Fousi Chemical Co., Ltd.», Китай), натрия сульфит («BASF Societas Europaea», Германия), натрия гидросульфит («Zhengzhou San Techchem Co., Ltd.», Китай), магния хлорид тетрагидрат («Weifang Xinchang Chemical Co., Ltd.», Китай), магния сульфат безводный («Laizhou Guangcheng Chemical Co., Ltd.», Китай), натрия дигидрофосфат («Hebei Henghe Import & Export Trading Co., Ltd.», Китай), кислота аскорбиновая («United Pharma Industries Co., Ltd.», Китай), вода для инъекций.

Опытные серии образцов получали с использованием оборудования: промышленная лиофильная сушилка GLZY-15B (Shanghai Pudong Freeze Drying Equipment Co., Ltd., Китай) в условиях фармацевтического предприятия, стерильный шприцевой фильтр с микропористой мембраной 0,45 мкм, мембранные фильтры с размером пор 0,22 мкм, лабораторная установка для стерилизующей фильтрации (Sartorius, Германия).

Оценку результатов испытаний при выборе оптимального состава лиофилизата для приготовления раствора для инъекций на основе доксициклина гиклата проводили визуальным методом (описание, время растворения, цветность), весовым методом

(однородность дозированных единиц), физико-химическими методами (вода, pH), спектрофотометрическим методом (цветность), микробиологическим методом (стерильность) [8]. Количественное содержание доксициклина гиклата определяли методом жидкостной хроматографии (ГФУ, 2.2.29) [9].

Опытные серии образцов получали по следующей технологии: в воде для инъекций растворяли вспомогательные вещества, доксициклина гиклат, обрабатывали активированным углём, фильтровали, расфасовывали в стеклянные флаконы, закупоривали резиновыми пробками для лиофилизации и загружали в лиофильную сушилку. Программа лиофилизации состояла из следующих стадий:

*Охлаждение.* Температуру камеры опускали до уровня не выше  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  и выдерживали 5 ч. За 45-75 мин. до начала сушки устанавливали вакуум на уровне 7-8,5 Па. После снижения давления до уровня менее 10 Па включали активный подогрев.

*Первичное высушивание.* В течение 1 часа полки нагревали до температуры  $-18\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , выключали активный нагрев и выдерживали лиофилизат при этой температуре до полного высушивания свободного льда около 25 часов. Завершение процесса освобождения от свободного льда считали моментом достижения одинаковой температуры продукта, максимально близкой к температуре полки ( $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для достижения однородного высушивания всей серии лекарственного средства с доксициклина гиклатом температуру поддерживали на заданном уровне до конца этапа (180-300) мин. с постоянным мониторингом вакуума на уровне до 13 Па. Затем температуру увеличивали до  $26\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  и выдерживали около 14 часов. Для повышения однородности сушки на показателе  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  осуществляли запрограммированную остановку нагрева на 60 мин.

*Вторичное высушивание.* Препарат выдерживали до 6 часов при температуре  $26\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Процесс лиофилизации заканчивали, если температура материала на всех полках оставалась стабильной в течение 2 часов. Через стерильный воздушный фильтр с размером пор 0,2 мкм в камеру лиофильной сушилки подавали сжатый азот с давлением до 300 Па и закупоривали флаконы путем опускания плиты.

Исследование антимикробной активности лиофилизированного порошка проводили *in vitro*, в качестве тест-культур использовали 5 музейных штаммов: грамположительные микроорганизмы *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus suis* ATCC 10234 и грамотрицательные культуры *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* ATCC 6017, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Уровень бактериостатической активности препарата устанавливали путём определения МИК доксициклина луночно-диффузионным методом в соответствии с методикой «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» на эталонных штаммах микроорганизмов [10]. Бактериостатические свойства лиофилизированного порошка, содержащего 100 мг ДГ, сравнивали с активностью препарата «Доксициклин-Дарница», в твердых желатиновых капсулах по 100 мг ДГ, производства ЗАО «Фармацевтическая фирма "Дарница"», поскольку переход от внутривенного на пероральный путь введения показан при возможности проведения пероральной терапии.

Для приготовления суспензий использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на неселективной твёрдой питательной среде – соево-казеиновом агаре (СКА) производства HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия. Отбирали однотипные, четко изолированные колонии и петлей переносили в пробирку со стерильным фосфатно-солевым буфером, с помощью денситометра McFarland units DEN-1 (BioSan, Латвия) доводили плотность до 0,5 по стандарту МакФарланда, что соответствовало  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл.

Инокуляцию осуществляли способом посева сплошным «газоном». Для этого пипеткой наносили по 1-2 мл суспензии микробных клеток на поверхность чашки Петри с соево-казеиновым агаром и равномерно распределяли, после чего удалили избыток инокулюма. Приоткрытые чашки подсушивали при комнатной температуре в течение 10-15 мин.

Приготовили 3 раствора доксициклина гиклата в концентрации 1000,0 мкг/мл из субстанции доксициклина гиклата, лиофилизированного порошка и капсульной массы твердых желатиновых капсул.

Навески для получения растворов рассчитывали по формуле (1):

$$m_{ДГ\ теор.} (мг) = \frac{C(мкг/мл) \times V_{теор.}(мл)}{A(содержание\ ДГ\ в\ мкг/мл)},$$

где  $m_{ДГ\ теор.}$  – расчётная (теоретическая) навеска доксициклина гиклата (ДГ);

$C$  – необходимая концентрация ДГ;

$V_{теор.}$  – объём воды для инъекций, необходимый для растворения теоретической навески;

$A$  – активность ДГ (количество ДГ, содержащегося в субстанции).

Необходимое количество растворителя (воды для инъекций) рассчитывали по формуле (2):

$$V_{практ.} (мл) = \frac{m_{ДГ\ практ.}(мг) \times V_{теор.}(мл)}{m_{ДГ\ теор.}(мг)},$$

где  $V_{практ.}$  – объём воды для инъекций, необходимый для растворения практической навески;

$m_{ДГ\ практ.}$  – полученная навеска ДГ;

$m_{ДГ\ теор.}$  – расчетная (теоретическая) навеска ДГ;

$V_{теор.}$  – объём воды для инъекций, необходимый для растворения теоретической навески.

Из каждого из 3-х приготовленных растворов с помощью контроллера для пипеток VITLAB pipero (VITLAB, Германия) готовили кратные разведения растворов ДГ с конечными концентрациями: 12 мкг/мл, 8 мкг/мл, 4 мкг/мл, 2 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,5 мкг/мл и 0,25 мкг/мл. Конечные концентрации определяли в зависимости от уровня чувствительности тест-штаммов микроорганизмов к ДГ.

На чашках Петри с СКА формировали по 7 лунок и с помощью пипет-дозатора переменного объёма VITLAB micropipette (VITLAB, Германия) вносили по 0,020 мкл рабочих разведений приготовленных концентраций так, чтобы препарат не выливался из ячеек. Чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при температуре 35 °С в течение 18-24 ч. После инкубации чашки помещали вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом 45°.

Учёт результатов проводили путём измерения зоны подавления роста микроорганизмов в миллиметрах (с точностью до 1 мм), включая диаметр лунок. При измерении зон задержки роста ориентировались на зону полного подавления видимого роста. Результаты оценивали по критериям:

– отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг лунки и зону диаметром до 10 мм оценивали как нечувствительность микроорганизмов к образцу;

– зоны диаметром 10-15 мм оценивали как умеренную чувствительность культуры к концентрации исследуемого действующего противомикробного вещества;

– зоны задержки роста диаметром 15-25 мм – штамм микроорганизма чувствительный к исследуемому образцу;

– зоны задержки роста, диаметр которых превышал 25 мм, свидетельствовали о высокой чувствительности микроорганизмов к исследуемому образцу.

МИК определяли по наименьшей концентрации ДГ, которая ингибировала видимый рост бактериальных колоний.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Разработка состава лиофилизированного порошка доксициклина гиклата

При разработке состава препарата учитывали, что водный раствор доксициклина является рН зависимым и имеет тенденции к смещению рН раствора при длительном хранении. Представленные на рынке коммерческие препараты имеют в составе антиоксидант и/или маннитол в качестве среды для высушивания и стабилизатор, поэтому нами в рамках научного поиска в состав были введены вспомогательные вещества – стабилизаторы и регуляторы рН, которые обеспечивают буферные свойства и стабильность раствора.

Так, натрия дигидрофосфат использован для регулирования рН. Для повышения стабильности водных растворов исследовали ряд вспомогательных веществ: калия метабисульфит, натрия сульфит, натрия гидросульфит, кислоту аскорбиновую и др., которые выполняют функцию прямых антиоксидантов; магния хлорид и сульфат включены в состав с целью стабилизации для образования хелатов магния-доксициклина.

Качественный и количественный составы экспериментальных образцов лиофилизатов и препаратов сравнения приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Качественный и количественный составы экспериментальных образцов лиофилизатов и препаратов сравнения

Составляющие	DOXY 100™	Доксициклин-Ферейн®	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4
Доксициклина гиклат в пересчёте на доксициклин	115 мг 100 мг	115 мг 100 мг	115 мг 100 мг	115 мг 100 мг	115 мг 100 мг	115 мг 100 мг
Натрия метабисульфит	-	6 мг	-	-	-	-
Трилон Б	-	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг	0,02 мг
Маннитол	300 мг	-	-	-	-	-
Калия метабисульфит	-	-	6 мг	-	-	-
Натрия сульфит	-	-	-	6 мг	-	-
Натрия гидросульфит	-	-	-	-	6 мг	-
Магния хлорид тетрагидрат	-	-	136 мг	-	-	120 мг
Магния сульфат безвод.	-	-	-	-	97 мг	-
Дигидрофосфат натрия	-	-	105 мг	-	36 мг	83 мг
Кислота аскорбиновая	480 мг	-	-	-	-	150 мг
Вода для инъекций	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл	до 1,6 мл

Полученные опытные растворы по физико-химическим свойствам представляли собой прозрачные растворы желтого цвета с рН в пределах от 1,8 до 3,3. Поскольку растворы имели интенсивную окраску, что является переменным фактором при длительном хранении, то для достижения однородности и интенсивности окраски лиофилизированного порошка была применена обработка активированным углём и исследовано влияние на полученные показатели качества [11].

К приготовленным растворам добавляли 0,25 г измельчённого активированного угля и перемешивали в течение 15 мин, после чего оставили на полчаса (в процессе адсорбции в образце №2 наблюдалось образование пузырьков). Очистку от сорбента осуществляли с помощью шприцевых мембранных фильтров с размером пор 0,45 мкм. Полученные растворы оценивали по методикам «Определение степени окраски жидкостей (ГФУ, 2.2.2.)» и «Оптическая плотность (ГФУ, 2.2.25)». Приготовленные растворы были разлиты в

стеклянные флаконы R6 по 1,6 мл приготовленного раствора доксициклина и загружены в лиофильную сушилку.

На рисунках 1 и 2 представлен внешний вид образцов №1-3 в виде приготовленных растворов, обработанных и необработанных активированным углем.



Рисунок 1. – Приготовленные растворы препарата, обработанные активированным углём



Рисунок 2. – Приготовленные растворы препарата, не обработанные активированным углём

После завершения цикла лиофилизации были получены экспериментальные серии лиофилизированных порошков, которые приведены на рисунках 3 и 4.



Рисунок 3. – Лиофилизированные порошки, полученные из обработанного активированным углём раствора доксициклина



Рисунок 4. – Лиофилизированные порошки, полученные из необработанного активированным углём раствора доксициклина

Результаты сравнительных исследований цветности растворов стандарта и растворов экспериментальных образцов, необработанных активированным углем (I) и обработанных активированным углем (II), представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. - Оценка цветности растворов экспериментальных образцов до и после выдерживания при температуре 40 °С в течение 24 часов

Опытные образцы		Допустимые пределы	Цветность раствора	
			После приготовления	После выдерживания при 40 °С в течение 24 часов
Образец 1	I	Цветность раствора должна быть не интенсивнее чем эталона Y <sub>3</sub>	Не соответствует (Y <sub>2</sub> )	Не соответствует (B <sub>2</sub> )
	II		Соответствует (Y <sub>3</sub> )	Не соответствует (B <sub>3</sub> )
Образец 2	I		Соответствует (Y <sub>3</sub> )	Не соответствует (GY <sub>3</sub> )
	II		Соответствует (Y <sub>4</sub> )	Соответствует (Y <sub>3</sub> )
Образец 3	I	Не соответствует (Y <sub>2</sub> )	Не соответствует (B <sub>2</sub> )	
	II	Не соответствует (GY <sub>3</sub> )	Не соответствует (B <sub>3</sub> )	
Образец 4	I	Не соответствует (B <sub>4</sub> )	Не соответствует (B <sub>2</sub> )	
	II	Соответствует (Y <sub>4</sub> )	Не соответствует (B <sub>4</sub> )	

Внешний вид растворов образцов №1-3 после выдерживания при температуре 40 °С в течение 24 часов изображен на рисунках 5 и 6.



Рисунок 5. – Опытные растворы, обработанные активированным углем, после выдерживания при температуре 40 °С в течение 24 часов



Рисунок 6. – Опытные растворы, необработанные активированным углем, после выдерживания при температуре 40 °С в течение 24 часов

Таблица 3. – Сравнительные исследования оптической плотности экспериментальных образцов до и после выдерживания при температуре 40 °С в течение 24 часов

Опытные образцы		Допустимые пределы	Оптическая плотность растворов	
			После приготовления	После выдерживания при 40 °С в течение 24 часов
Образец 1	I	Оптическая плотность должна быть не более 0,07 при длине волны 490 нм	0,09 (не соответствует)	0,27 (не соответствует)
	II		0,07 (соответствует)	0,20 (не соответствует)
Образец 2	I		0,06 (соответствует)	0,10 (не соответствует)
	II		0,04 (соответствует)	0,06 (соответствует)
Образец 3	I		0,08 (не соответствует)	0,25 (не соответствует)
	II		0,10 (не соответствует)	0,19 (не соответствует)
Образец 4	I	0,17 (не соответствует)	0,24 (не соответствует)	
	II	0,05 (соответствует)	0,15 (не соответствует)	

Как видно из полученных результатов, применение стадии обработки сорбентом для обесцвечивания значительно улучшает внешний вид лекарственной формы и позволяет получить осветленный продукт стандартного цвета.

Оценка показателей качества опытных образцов лиофилизатов с доксициклина гиклатом представлена в таблице 4.

Таблица 4. – Сравнительная характеристика показателей качества исследуемых образцов лиофилизированных порошков

Показатели качества	Допустимые пределы	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4
Описание	Сухая пористая масса светло-желтого цвета	Сухая пористая масса светло-желтого цвета, очень хрупкая (не соотв.)	Сухая пористая масса светло-желтого цвета, однородная (соотв.)	Сухая пористая масса кремового цвета, есть сколы (не соотв.)	Сухая пористая масса желтого цвета (не соотв.)
Прозрачность	Должен быть прозрачным по сравнению с водой <i>P</i>	Прозрачный (соотв.)	Прозрачный (соотв.)	Мутный (не соотв.)	Мутный, есть пена (не соотв.)
Цветность	Окраска не интенсивнее	Y <sub>3</sub> (соотв.)	Y <sub>4</sub> (соотв.)	GY <sub>3</sub> (не соотв.)	Y <sub>4</sub> (соотв.)

	эталона $Y_3$				
pH	От 1,8 до 3,3	$2,95 \pm 0,04$	$2,37 \pm 0,04$	$3,21 \pm 0,04$	$3,27 \pm 0,04$
Время растворения	Легко растворим в 1 мл за 1 мин	16 сек (соотв.)	12 сек (соотв.)	19 сек (соотв.)	15 сек (соотв.)
Вода	Не более 3,0%	$2,8 \pm 0,02$ (соотв.)	$1,8 \pm 0,02$ (соотв.)	$2,5 \pm 0,02$ (соотв.)	$2,8 \pm 0,02$ (соотв.)
Количество содержания доксициклина	От 95,0 до 105,0 мг/мл	$104,1 \pm 0,01$ (соотв.)	$103,0 \pm 0,01$ (соотв.)	$100,8 \pm 0,01$ (соотв.)	$101,9 \pm 0,01$ (соотв.)
Содержание сухих веществ	Не более 13%	$36,2 \pm 0,04$ (не соотв.)	$12,1 \pm 0,04$ (соотв.)	$25,4 \pm 0,04$ (не соотв.)	$79,0 \pm 0,04$ (не соотв.)
Однородность дозированных единиц	Для 10 единиц препарата приемлемое число должно быть не более 15,0 ( $L_1$ )	$6,6 < L_1$ (соотв.)	$1,7 < L_1$ (соотв.)	$16,0 < L_2$ (соотв.)	$5,4 < L_1$ (соотв.)
Стерильность	Стерильный	Стерильный (соотв.)	Стерильный (соотв.)	Стерильный (соотв.)	Стерильный (соотв.)

На основании полученных данных установлено, что опытные образцы №1 и №3, несмотря на достаточный остаток сухих веществ, имеют очень хрупкую сухую пористую структуру, которая разрушается при приложении усилий и может образовывать сколы при встряхивании и/или транспортировке лекарственного средства. Увеличение доли сухих веществ в составе образцов не обеспечивало получения прочно сформированной пористой массы, что ведёт за собой необходимость подбора оптимальных режимов заморозки и сушки, а также усовершенствование рецептуры для обеспечения устойчивости качественных характеристик лекарственного средства в течении срока годности.

Опытный образец №4 имеет более устойчивую к встряхиванию пористую массу, но при растворении наблюдалось пенообразование, что может влиять на полноту дозы при наборе в шприце.

Опытный образец №2 характеризуется хорошо сформированной пористой массой без сколов, изломов и трещин лиофильной «таблетки», имеет устойчивую к встряхиванию пористую массу, отсутствие пенообразования при растворении и стабильность показателя «Цветность» при ускоренном режиме хранения.

Поэтому для дальнейших исследований выбран состав №2. Действующее вещество доксициклина гиклат введен в состав лиофилизата для приготовления инъекций в концентрации 100 мг в 1,6 мл в пересчете на 100% сухое вещество. В качестве стабилизатора применён натрия сульфит, его концентрация составляет 3,75 мг/мл. Трилон Б выполняет роль антиоксиданта и комплексообразователя, он связывает ионы железа и меди, которые находятся в воде для инъекций или попали в неё во время производства из оборудования и сырья. Определено, что необходимое количественное содержание трилона Б составляет 0,0125 мг/мл. В качестве растворителя использовали воду для инъекций.

Полученный лиофилизат имеет вид стабильной пористой массы однородного светло-желтого цвета.

### **Сравнительная оценка антибактериального действия лиофилизированного порошка доксициклина гиклата**

Результаты сравнительных исследований эффективности разработанного антибактериального препарата относительно *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus suis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* приведены на рисунках 7-11 и в таблицах 5-6.

По результатам проведённых исследований выявлено, что доксициклина гиклат в форме лиофилизата проявляет широкий спектр антибактериальной активности.

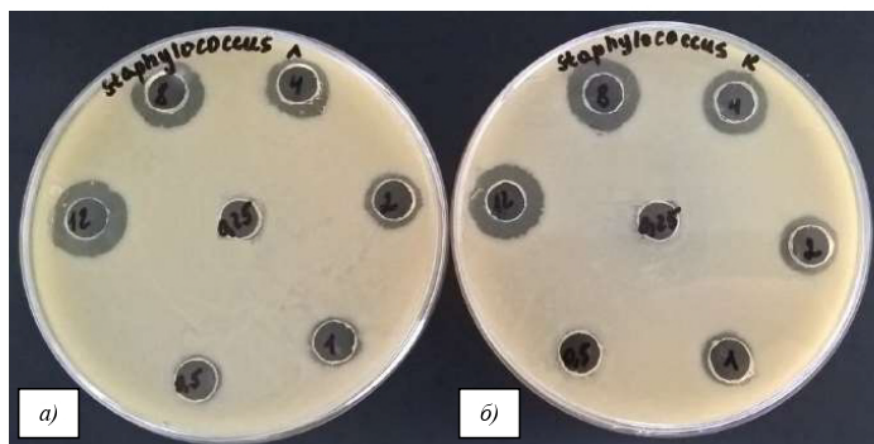


Рисунок 7. – Результаты определения чувствительности тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 к доксициклина гиклату: а) в форме лиофилизата; и б) твёрдых желатиновых капсул

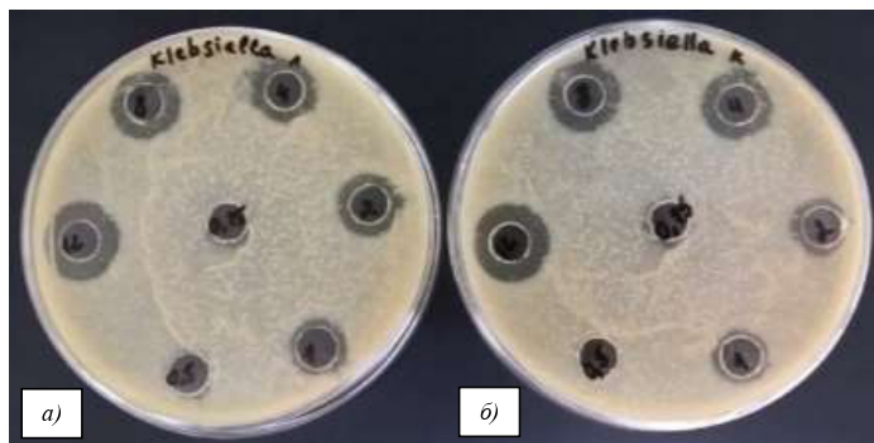


Рисунок 8. – Результаты определения чувствительности тест-штамма *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 к доксициклина гиклату: а) в форме лиофилизата; и б) твёрдых желатиновых капсул

Как видно из рисунков 7–8, отсутствие роста колоний вида *Staphylococcus aureus* установлено при использовании рабочих разведений 4,0 мкг/мл как для лиофилизированного порошка, так и для оральной формы. При рабочем разведении 2,0 мкг/мл ДГ определено, что *Klebsiella pneumoniae* проявляет умеренно выраженную чувствительность к антибиотику.

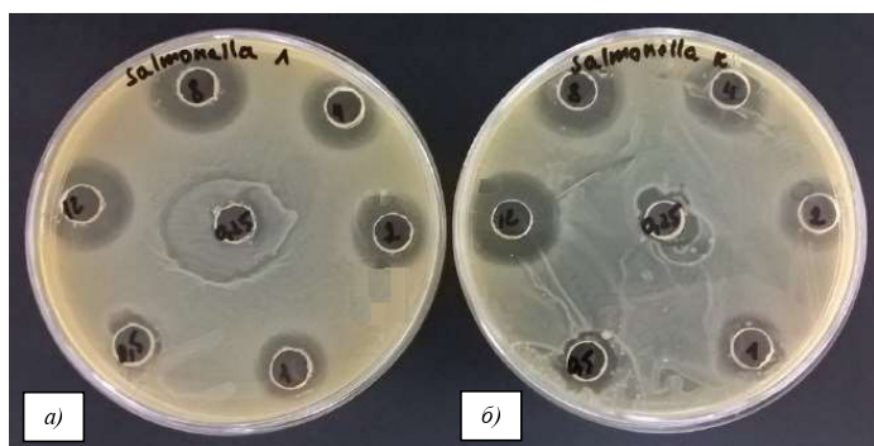




Рисунок 9. – Результаты определения чувствительности тест-штамма *Salmonella enterica* ATCC 6017 к доксициклина гиклату: а) в форме лиофилизата; и б) твёрдых желатиновых капсул

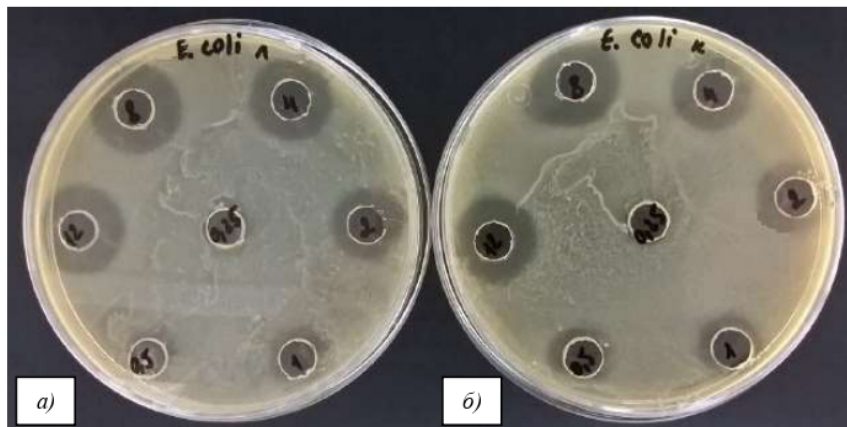


Рисунок 10. – Результаты определения чувствительности тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922 к доксициклина гиклату: а) в форме лиофилизата; и б) твёрдых желатиновых капсул

МИК лиофилизированного порошка относительно *Escherichia coli* и *Salmonella enterica* составляет 1,0 мкг/мл.

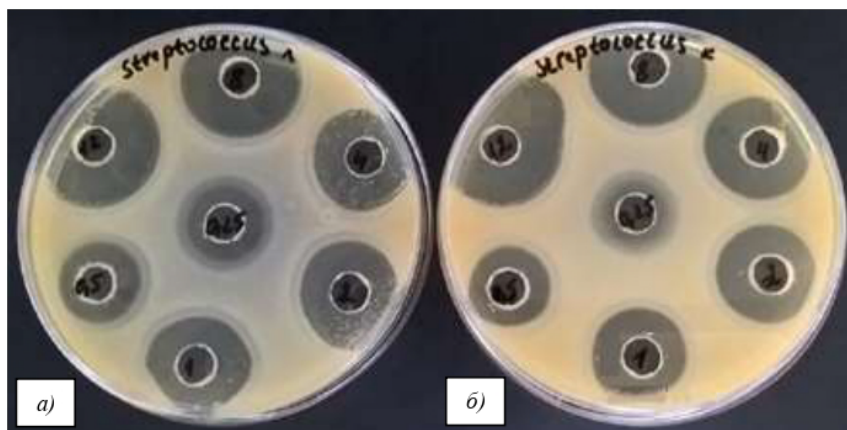


Рисунок 11. – Результаты определения чувствительности тест-штамма *Streptococcus suis* ATCC 10234 к доксициклина гиклату: а) в форме лиофилизата; и б) твёрдых желатиновых капсул

Из рисунка 11 видно, что наиболее чувствительным к препаратам на основе доксициклина является штамм *Streptococcus suis* (МИК < 0,25 мкг/мл), причём установлено, что диаметр зон задержки роста ДГ из рабочих растворов лиофилизированного порошка значительно превышает диаметр зон задержки роста рабочего раствора ДГ из капсульной массы.

Уровень бактериостатической активности исследуемых препаратов относительно эталонных штаммов микроорганизмов приведен в таблице 5.

Таблица 5. – Уровень бактериостатической активности исследуемых препаратов

Эталонные штаммы микроорганизмов	Диаметры зон подавления роста при применении максимальной исследуемой концентрации антибиотика ( $C_{max}$ ) и минимальной ингибирующей концентрации (МИК), мм	
	Лиофилизированный порошок для	Твёрдые желатиновые капсулы

	приготовления раствора для инъекций		«Доксициклин»	
	$C_{\max}$	МИК	$C_{\max}$	МИК,
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	14,0±0,3 (умеренно чувств.)	10,2±0,2 (умеренно чувств.)	13,7±0,3 (умеренно чувств.)	10,0±0,2 (умеренно чувств.)
<i>Streptococcus suis</i> ATCC 10234	27,1±0,1 (высокая чувств.)	18,6±0,2 (чувств.)	26,8±0,1 (высокая чувств.)	17,0±0,2 (чувств.)
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 700603	13,8±0,2 (умеренно чувств.)	10,3±0,1 (умеренно чувств.)	13,0±0,2 (умеренно чувств.)	10,1±0,3 (умеренно чувств.)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21,2±0,2 (чувств.)	11,2±0,3 (умеренно чувств.)	19,5±0,2 (чувств.)	12,4±0,4 (умеренно чувств.)
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 6017	22,6±0,3 (чувств.)	12,5±0,2 (умеренно чувств.)	22,9±0,3 (чувств.)	12,2±0,2 (умеренно чувств.)

Показатели МИК исследуемых препаратов для эталонных штаммов микроорганизмов приведены в таблице 6.

Таблица 6. – МИК исследуемых антибактериальных препаратов

Вид микроорганизмов	Штамм	Показатель МИК, (мкг/мл)	
		Лиофилизированный порошок для приготовления раствора для инъекций	Твёрдые желатиновые капсулы «Доксициклин»
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	4,0	4,0
<i>Streptococcus suis</i>	ATCC 10234	<0,25	<0,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	2,0	2,0
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	1,0	1,0
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 6017	1,0	1,0

Результаты проведенного эксперимента подтверждают наличие чувствительности тест-штаммов к действию разработанного препарата доксициклина гиклата в виде лиофилизированной формы: высокая чувствительность – *Streptococcus suis*; чувствительность – *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*; умеренная чувствительность – *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. Экспериментально установлено, что оба исследуемых образца в форме лиофилизата и твердых желатиновых капсул проявляют антибактериальную активность в МИК, но растворённое парентеральное средство позволяет значительно быстрее доставить активное вещество в системный кровоток по сравнению с медленным высвобождением и всасыванием пероральной формы.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан оптимальный состав лиофилизированного порошка для приготовления раствора для инъекций с доксициклина гиклатом. Введение в рецептуру стабилизатора, антиоксиданта и технологического приёма как осветление раствора адсорбентом, позволили получить лиофилизированный порошок с хорошо сформированной пористой массой без сколов, изломов и трещин, устойчивый к встряхиванию.

Установлено отсутствие пенообразования при приготовлении раствора лиофилизированного порошка доксициклина гиклата, приготовленный раствор стабильный по показателю «Цветность» при ускоренном режиме хранения.

Экспериментально установлено, что гиклат доксициклина в форме лиофилизата проявляет широкий спектр антибактериальной активности. Проведенные сравнительные

исследования *in vitro* для двух лекарственных средств доксициклина гиклата по 100 мг в форме лиофилизата для приготовления раствора инъекций и твердых желатиновых капсул «Доксициклин-Дарница», подтверждают эквивалентность их бактериостатического действия в отношении бактерий – возбудителей инфекционных заболеваний человека.

Результаты исследований технологических факторов, физико-химических показателей и бактериостатического действия препарата позволяют сделать вывод о пригодности разработанного состава лиофилизата для дальнейших доклинических исследований.

### **SUMMARY**

Saliy E.A., Honcharuk A.Yu., Getalo O.V., Tarasenko H.V.

#### **DEVELOPMENT AND EVALUATION OF LYOPHILIZED POWDER FOR PREPARATION OF SOLUTION FOR INJECTION BASED ON DOXYCYCLIN**

The range of doxycycline drugs in the pharmaceutical market of Ukraine is very limited and is represented by solid forms (capsules and tablets), while the rapid effect and maximum bioavailability of the drug can be provided by parenteral administration. The object of the study is the drug doxycycline hyclate in the form of a lyophilisate for the preparation of a solution for injection. During the development of the drug, it was taken into account that the aqueous solution of doxycycline is pH dependent and tends to shift the pH of the solution during long-term storage. Therefore, excipients such as stabilizer and antioxidant were introduced into the composition, which provide buffering properties and stability of the solution. According to the research results the optimal composition of lyophilized powder was selected, the production technology with the stage of solution treatment with activated carbon was developed, which allowed to obtain lyophilized powder with a well-formed porous mass without splits, cracks and fractures, resistant to shaking, and the prepared solution for parenteral administration is stable by the «Degree of coloration» quality indicator during accelerated storage.

It was found that doxycycline hyclate in the form of a lyophilisate shows a wide range of antibacterial activity. *In vitro* comparative studies for two drugs of doxycycline hyclate in the form of lyophilisate for injection and hard gelatin capsules of 100 mg of doxycycline hyclate confirm the equivalence of their bacteriostatic action against bacteria that cause infectious diseases in humans.

**Keywords.** Doxycycline hyclate, lyophilisate for solution for injection, bacteriostatic activity, minimum inhibitory concentration (MIC), test strains of microorganisms.

### **ЛІТЕРАТУРА**

1. Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T.* 2015 Apr; 40(4):277-83. PMID: 25859123; PMCID: PMC4378521.
2. Holmes N.E., Charles P.G.P. Safety and efficacy review of doxycycline // *Clin. Med. Ther.*, 1 (2009), PP. 471-482.
3. Schroeder C., Chowdhury I., Narra H., Patel J., Sahni A., Sahni S. (2016). Human Rickettsioses: Host Response and Molecular Pathogenesis. In: Thomas S. (eds) *Rickettsiales*. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-46859-4\_19
4. COVID-19 rapid guideline: managing suspected or confirmed pneumonia in adults in the community (NG165). NICE guideline. Published: 3 April 2020/ [www.nice.org.uk/guidance/ng165](http://www.nice.org.uk/guidance/ng165). [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng165/resources/covid19-rapid-guideline-managing-suspected-or-confirmed-pneumonia-in-adults-in-the-community-pdf-66141902429125>.
5. Yates P.A., Newman S.A., Oshry L.J., Glassman R.H., Leone A.M., Reichel E. Doxycycline treatment of high-risk COVID-19-positive patients with comorbid pulmonary disease. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 2020;14:1753466620951053. doi: 10.1177/1753466620951053. PMID: 32873175; PMCID: PMC7476338.

6. Салій О. О. Порівняльні дослідження профілів вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул при зміні виробників діючої речовини / Салій О. О., Куришко Г. Г., Огеренко З. О., Гетало О. В. // Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Серія Технічні науки. – 2020. – № 3 (146). – С. 165-174. /https://doi.org/DOI:10.30857/1813-6796.2020.3.14
7. Jutglar M., Foradada M., Caballero F., Hoogmartens J., Adams E. (2018). Influence of the solvent system on the stability of doxycycline solutions. / Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Vol. 159. - Pages 60-65. doi: 10.1016/j.jpba.2018.06.054
8. Державна Фармакопея України: в 3т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
9. Доксицикліну хіклат // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково–експертний фармакопейний центр». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 2. — С. 214-216.
10. Некрасова Л. С. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки. / Л. С. Некрасова, В. М. Свита, Т. Г. Глушкевич та ін. // МВ 9.9.5 – 143-2007 К., 2007, С. 74.
11. Preparation method of doxycycline hyclate freeze-dried powder injection : application CN201510495924.8A China / Fang Zhengyuan, Jiang Qiang, Jin Tao ; applicant Hainan General Kang Li Pharmaceutical Co Ltd. – № 105078905; declared 13.08.2015.

#### **REFERENCES**

1. Ventola C.L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P T. 2015 Apr;40(4):277-83. PMID: 25859123; PMCID: PMC4378521
2. Holmes N.E., Charles P.G.P. Safety and efficacy review of doxycycline // Clin. Med. Ther. 2009;(1):471-482
3. Schroeder C., Chowdhury I., Narra H., Patel J., Sahni A., Sahni S. (2016). Human Rickettsioses: Host Response and Molecular Pathogenesis. In: Thomas S. (eds) Rickettsiales. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-46859-4\_19
4. COVID-19 rapid guideline: managing suspected or confirmed pneumonia in adults in the community (NG165). NICE guideline. Published: 3 April 2020/ www.nice.org.uk/guidance/ng165. [Electronic resource]. Available from: URL: https://www.nice.org.uk/guidance/ng165/resources/covid19-rapid-guideline-managing-suspected-or-confirmed-pneumonia-in-adults-in-the-community-pdf-66141902429125
5. Yates P.A., Newman S.A., Oshry L.J., Glassman R.H., Leone A.M., Reichel E. Doxycycline treatment of high-risk COVID-19-positive patients with comorbid pulmonary disease. Therapeutic Advances in Respiratory Disease, 2020;14:1753466620951053. doi: 10.1177/1753466620951053. PMID: 32873175; PMCID: PMC7476338
6. Saliy O.O., Kuryshko H.H., Oherenko Z.O., Getalo O.V. Comparative studies of the release profiles of doxycycline hyclate from solid gelatin capsules when replacing the producers of the active substance. Visnyk Kyivskoho natsional'noho universytetu tekhnolohiy ta dyzaynu. Seriya Tekhnichni nauky. 2020;(3(146)):166-167. doi:10.30857/1813-6796.2020.3.14. (In Ukr.)
7. Jutglar M., Foradada M., Caballero F., Hoogmartens J., Adams E. Influence of the solvent system on the stability of doxycycline solutions. / Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2018;(159):60-65. doi: 10.1016/j.jpba.2018.06.054
8. Derzhavne pidpryyemstvo «Ukrayins'kyy naukovyy farmakopeyny tsentr yakosti likars'kykh zasobiv». The State Pharmacopoeia of Ukraine: v 3 t. 2-e vyd. T. 1. Kharkiv:

Derzhavne pidpryyemstvo «Ukrayins'kyi naukovyy farmakopeynyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv», Ukraina; 2015. 1128 s. (In Ukr.)

9. Derzhavne pidpryyemstvo «Naukovo–ekspertnyy farmakopeynyy tsentr». The State Pharmacopoeia of Ukraine. Doxycycline hyclate. 2-e vyd. T. 2. Kharkiv: Derzhavne pidpryyemstvo «Ukrayins'kyi naukovyy farmakopeynyy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv», Ukraina; 2014. 214-216 s. (In Ukr.)

10. L.S. Nekrasova, V.M. Svita, T.G. Glushkevich. Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Methodical instructions. MV 9.9.5 – 143-2007 K. 2007;(143):74. (In Ukr.)

11. Preparation method of doxycycline hyclate freeze-dried powder injection : application CN201510495924.8A China / Fang Zhengyuan, Jiang Qiang, Jin Tao ; applicant Hainan General Kang Li Pharmaceutical Co Ltd. – № 105078905; declared 13.08.2015