МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

РЕФЕРАТ

до дипломної магістерської роботи (проекту)

на тему: «Порівняльні фармако-технологічні та аналітичні дослідження

лікарсьського засобу для антибактеріальної терапії»

Виконала студентка ІІ курсу,

групи МгЗХФ-19

спеціальності

226 – Фармація, промислова фармація

Огеренко З.О.

Керівник: к.ф.н., доц. Салій О.О.

Рецензент: к.х.н., проф. Баула О.П.

Київ - 2020 р.

**Актуальність теми**. В даний час глобальне зростання резистентності збудників до широко використовуваних антибіотиків вимагає необхідність повернення до практики використання деяких класичних препаратів із збереженою активністю за відповідними показниками. Доксициклін є одним з найбільш вживаних антибіотиків та відноситься до препаратів широкого спектру дії, оскільки він ефективний у відношенні і грампозитивної, і грамнегативної флори, у тому числі і атипових збудників. На протязі останніх років спостерігався дефіцит доступності субстанції доксицикліну хіклату, що викликаний з однієї сторони зростанням попиту, оскільки тетрациклін стає менш доступним, з іншої - проблемами при виробництві АФІ доксицикліну, пов’язаних з технологічними параметрами, утворенням домішок, дослідженнями профілю домішок, частих внесень змін у монографії провідних фармакопей на АФІ «Doxycycline hyclate», тощо.

Саме оцінка і підтвердження схем синтезу, профілю домішок, сольової форми та кінетики вивільнення субстанції доксицикліну мають бути доведені виробниками готових лікарських засобів при заміни сировини у виробництві та забезпечення гарантованої ефективності препарату

**Мета даної роботи** полягає у розробці складу капсул у твердих желатинових капсулах, вибір діючої речовини доксицикліну хіклату та виробника АФІ, проведенні порівняльних досліджень профілів вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул, напрацьованих з діючої речовини альтернативних виробників.

**Основні задачі дослідження**:

1. Виявити та проаналізувати основні проблеми антибактеріальної терапії.

2. Провести аналіз ринку лікарських засобів у формі твердих желатинових капсул та провести огляд інформації щодо ефективності доксицикліну та можливості його застосування в лікарській практиці.

3. Вивчити фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості діючої речовини доксицикліну хіклату.

4. Визначити біофармацевтичні та технологічні аспекти створення лікарської форми – твердих желатинових капсул.

5. Провести дослідження з використанням тесту «Розчинення» для ЛЗ на основі АФІ декількох виробників та зробити висновок про можливість застосування АФІ альтернативних виробників.

6. Розробити GMP–концепцію технологічного процесу виробництва лікарського засобу у формі твердих желатинових капсулах.

**Об’єкт дослідження**. Діюча речовина – доксицикліну хіклат, допоміжні речовини, лікарська форма, технологічний процес.

**Предмет дослідження**. Біофармацевтичні характеристики, фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості доксицикліну хіклату, розчинення ЛЗ альтернативних виробників.

**Методи дослідження**. При проведенні досліджень були задіяні такі методи досліджень:

• теоретичний (аналіз нормативної літератури, наукових праць та ін.);

• фізичні та фізико-хімічні методи аналізу згідно вимог ДФУ;

• фармако-технологічні випробування згідно вимог ДФУ;

• аналітичні випробування методом СФ;

• обробку результатів досліджень здійснювали статистичним методом.

**Наукова новизна роботи**. Експериментально доведено, що обґрунтований підхід оцінки за результатами показників якості, профілем домішок та дослідженням профілів розчинення твердих лікарських форм in vitro надає можливість оцінити ризики застосування АФІ, синтезованого різними фірмами-виробниками.

**Практична цінність**. Отримані результати експерименту дозволяють виробниками готових лікарських засобів обґрунтовано застосовувати альтернативних виробників сировини для забезпечення безперебійного промислового виробництва та задоволення попиту ринку.

Доксициклін, отриманий в 1960-х роках, є напівсинтетичним представником тетрациклінів - одного з найвідоміших і вивчених класів антимікробних препаратів (АМП). Бактеріостатична активність тетрациклінів обумовлена їх зв'язуванням з 30S субодиницею рибосом, що призводить до порушення синтезу білка мікробної клітиною. Після накопичення багатого клінічного досвіду часто безконтрольного застосування доксицикліну за дуже широкими показаннями препарат втратив колишню популярність на тлі зростання резистентності збудників до нього і появи більш молодих представників антимікробних препаратів інших класів, що володіють фармакодинамічними перевагами на тлі кращого профілю безпеки.

Не останню роль зіграла і невиправдана екстраполяція частоти і вираженості можливих небажаних лікарських явищ попередника тетрацикліну на доксициклін, який де-факто володіє кращими характеристиками безпеки і комплаєнтності завдяки фармакокінетичним особливостям, що дозволяє приймати препарат одноразово в добу.

Однак в даний час глобальне зростання резистентності збудників до широко використовуваних антибіотиків диктує необхідність повернення до практики використання деяких класичних препаратів із збереженою активністю за відповідними показниками. При безперечно актуальних сьогодні інфекціях, що передаються статевим шляхом, хламідійної і змішаної етіології, запальних захворюваннях органів малого тазу та інфекціях нижніх дихальних шляхів, доксициклін, в т. ч. і в складі комбінованої терапії, здатний цілком успішно вирішити проблему атипових збудників. Для вугрової висипки, періодонтиту монотерапія доксицикліном є досить ефективною, що показано в ряді якісних клінічних досліджень. Все зростаюча частота кліщових інфекцій, головним чином бореліозу, змушує згадати про високу активність препарату по відношенню до збудника даного захворювання, що дозволяє використовувати доксициклін для профілактики і терапії хвороби Лайма.

Значно збільшені в останнє десятиліття міграційні та туристичні потоки, а також можлива загроза біотероризму обумовлюють інтерес до доксицикліну як препарату вибору для терапії та / або профілактики трансмісивних захворювань і зоонозів (в т. особливо небезпечних). Далі розглянемо окремі випадки застосування доксицикліну в клінічній практиці.

На вітчизняному ринку представлений досить великий асортимент антибіотиків, тому виникає необхідність проведення маркетингових досліджень українського ринку антибіотиків. Маркетингові дослідження проведено на основі контент-аналізу джерел інформації (офіційної інформаційної бази Державного реєстру лікарських засобів), їх систематизації та подальшого логічного, структурного, порівняльного, графічного аналізу. За групами антибіотиків, які використовуються для лікування, був проведений аналіз ринку України, який представлений 959 найменуваннями, з них: 672 препарати закордонного виробництва та 287 вітчизняного виробництва. Був проведений аналіз структури антибактеріальних препаратів вітчизняного виробництва. Виявлено, що лідером виробництва є ПАТ «Київмедпрепарат», який входить до складу корпорації «Артеріум» — 66 препаратів антибактеріального призначення, ЗАТ НВЦ «Борщагівський» — 26 препаратів, ФК ООО «Астрафарм» — 24 препарати, ФК «Здоров’я» — 21 препарат, АТ «Лекхім» — 20 препаратів.

В основу біофармацевтичних уявлень покладено визнання біологічної (медичної) значущості всіх фармацевтичних факторів і розгляд ліків як складної фізико-хімічної системи, єдності лікарських речовин і фармацевтичних факторів. До біофармацевтичних чинників відносять:

1) просту хімічну модифікацію лікарських і допоміжних речовин;

2) фізичний стан лікарських і допоміжних речовин;

3) технологічні процеси отримання ліків;

4) природа, властивості допоміжних речовин;

5) вид лікарської форми.

Всі фактори вносять певний вклад в біодоступність лікарського засобу доксициклін в твердих желатинових капсулах. Оскільки, доксициклін, що розглядається є генеричним лікарським засобом, то деякі з факторів біодоступості втрачають вирішальне значення і ними можна знехтувати. Це пов’язано з тим, що генеричний та відповідний йому оригінальний ЛЗ має схожий склад і лікарську форму, тому фактори хімічної модифікації та виду лікарської форми не вирішальні. Вагу мають фактори фізичного стану, допоміжних речовин та технологічного процесу.

Згідно переліку діючих речовин, для яких визначено клас за БСК відповідно до рекомендацій ВООС доксициклін належить до речовин з високою розчинністю і високим ступенем проникнення, тобто до першого класу БСП. Таким чином, генеричний препарат, до складу якого входить діюча речовина, що має високу розчинність і високий ступінь проникнення (клас 1 БСК), може бути рекомендований до реєстрації за результатами досліджень in vitro за умови, що препарат належить до швидко розчинних і профіль його розчинення подібний до профілю розчинення референтного препарату у буферних розчинах зі значеннями рН 1,2, 4,5 і 6,8 при використанні методу з лопаттю (50 (75) об/хв) або з кошиком (100 об/хв), тобто має f2 ≥ 50 (або відповідає еквівалентним статистичним критеріям).

Для кількісного визначення доксицикліну, як сполуки, що має в своїй структурі системи сполучених зв'язків, використовують метод УФ-спектрофотометрії (аналіз по електронним спектрам речовини). Аналіз електронних спектрів в різних розчинниках показав, що доксициклін має УФ-спектри, що характеризуються однією смугою поглинання з двома максимумами. Наявність яскраво вираженого максимуму абсорбції доксицикліну в 0,01 розчині хлористоводневої кислоти, в видимій області вимірювань, при довжині хвилі 268 нм дозволяє використовувати власне поглинання речовини в розробці спектрофотометрической методики його кількісного визначення.

**Умови проведення тесту «Розчинення».**

Матеріалом досліджень були зразки серій лікарського засобу доксицикліну хіклату у формі твердих желатинових капсул, виготовленого з АФІ виробника фірми "Kaifeng Pharmaceutical Group Co. Ltd", Китай та обраного виробника "Hebei Jiupeng Pharmaceutical Co., Ltd", Китай. За своїми фізико-хімічними характеристиками зразки АФІ повністю відповідають вимогам монографії Європейської фармакопеї та являть собою жовтий, кристалічний гігроскопічний порошок, легко розчинний у воді та метанолі, помірно розчинний у 96% спирті, у розчинах лугів та карбонатів.

Дослідження профілів вивільнення діючої речовини референтного та обраного виробників АФІ проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.9.3. Тест «Розчинення» для твердих дозованих форм за наступних умов:

• тип приладу: прилад з лопаттю;

• об'єм середовища розчинення: 900 мл;

• температура розчинення: 37,0 ± 0,5ºС;

• середовища розчинення: буферні розчини з рН 1,2 (0,1 М НСl), рН 4,6 (ацетатний буфер) и рН 6,8 (фосфатний буфер);

• швидкість обертання лопаті: 75 об/хв.;

• час відбору проб: 15 хв., 30 хв., 45 хв.

Для випробування в камеру для розчинення поміщали 1 капсулу лікарського засобу. Кількісний вміст доксицикліну, вивільненого в буферний розчин, визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області при максимумі довжині хвилі 267 нм відповідно до вимог ДФУ 2.2.25. Розчин порівняння готували шляхом розчинення стандартного зразку доксицикліну хіклату ЕР CRS (Catalogue code: D3000000) у відповідному середовищі розчинення.

Результати проведених досліджень виражали у відсотках від номінального вмісту доксицикліну хіклату в одиниці лікарського засобу. Фактор подібності (f2) кінетики розчинення діючої речовини розраховували математично для демонстрації та обговорення профілів подібності лікарських засобів.

**Дослідження кінетики вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул.**

Доксициклін хіклат відноситься до 1 класу БСК (речовини з високою розчинністю і високим ступенем проникнення), та характеризований як дуже швидкорозчинна або швидкорозчинна речовина, як але описані ризики, що деякі склади твердих форм негайного вивільнення з доксицикліну хіклатом можуть розчинятися занадто повільно за рахунок вмісту різних допоміжних речовин або застосовуються різні методи виробництва.

Для підтвердження подібності профілів розчинення досліджували зразки Доксицикліну хіклат, капсули по 100 мг серії 001, виготовлених на основі АФІ виробника «Kaifeng Pharmaceutical Group Co. Ltd , та серії 002, виготовлених на основі АФІ виробника "Hebei Jiupeng Pharmaceutical Co., Ltd", та проводили випробування розчинів при трьох значеннях рН: рН 1,2 (0,1 М НСl), рН 4,6 (ацетатний буфер) і рН 6,8 (фосфатний фізіологічний буфер). У дипломній роботі представлено результати у статистичному вигляді ступеню вивільнення доксицикліну хіклату у трьох буферних середовищах з рН 1,2, 4,5 та 6,8 для 12 капсул кожної серії.

**Результати досліджень.**

Досліджено проблематику антибактеріальної терапії та виділено основні проблеми цього методу лікування: ріст антибіотикорезистентності, нераціональне використання антибіотиків у лікувальній практиці, широке застосування генериків низької якості.

Проаналізовано ринок твердих желатинових капсул та місце основних груп лікарських засобів у формі твердих желатинових капсул представлених в Україні на даних момент. В результаті аналізу виявлено, що антибіотики займають достатньо великий сегмент ринку желатинових капсул – близько 20%. Крім того, серед представлених у ТЖК груп антибіотиків тетрацикліни мають долю в 20 %.

Біофармацевтичні дослідження встановлюють кореляцію між фармацевтичними факторами такими як вплив фізико-хімічного стану речовин, вплив допоміжних речовин, лікарської форми та технології виготовлення на біодоступність та ефективністю дії ЛЗ.

Практика використання доксицикліну для терапії інфекцій налічує багато десятиліть, препарат продовжує бути затребуваним для терапії широкого кола актуальних, соціально-значущих і особливо небезпечних захворювань людини. На тлі відсутності значимого прогресу в появі нових АМП активність препарату відносно атипових збудників може бути з успіхом реалізована для моно- і комплексної терапії ІПСШ, ЗЗОМТ, ІДШ.

Розглянуто умови проведення тесту «Розчинення» для твердих дозованих форм. В результаті теоретичного дослідження питання обрано тип приладу, об'єм середовища розчинення, температура розчинення, середовища розчинення, швидкість обертання лопаті, час відбору проб.

Проведено порівняльні дослідження in vitro для двох серій лікарського засобу встановили подібність кінетики вивільнення діючої речовини. Розраховані значення коефіцієнту подібності становлять: f2=78,4 для розчину з pH=1,2; f2=82,7 для розчину з pH=4,6 та f2=75,8 для розчину з pH=6,8. Відповідно до досліджень у трьох буферних розчинах, коефіцієнту подібності знаходиться в межах від 50 до 100, що робить висновок про альтернативність та можливість застосування досліджених виробників АФІ для забезпечення виробництва лікарського засобу доксицикліну хіклату у твердих желатинових капсулах по 100 мг. Відносне стандартне відхилення середнього значення (RSD) ступеня вивільнення складає менше 20% в першій точці контролю і не більше 10%, починаючи з другої і до останньої точки контролю і свідчить, що результати є дійсні.

В результаті досліджень було зроблено висновок про можливість застосування досліджуваної альтернативної субстанції Hebei Jiupeng Pharmaceutical Co., Ltd для виготовлення капсул ЛЗ доксицикліну.

Розроблено методику контролю очищення технологічного від АФІ доксицикліну хіклату з використанням методу абсорбційної оптичної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області.

Розроблена технологічна схема виготовлення препарату. Розглянуті усі основні стадії виробництва. Особливу увагу звернули на санітарну обробку приміщень та підготовку сировини, обладнання, повітря та персоналу. Кожен з цих пунктів відіграє вирішальну роль в якості готового лікарського засобу.

Розглянуто основне технологічне обладнання: ротаційний змішувач та інкапсулятор. Саме з цим обладнанням напівпродукт контактує найбільшу кількість часу. Розроблена методика очищення обладнання стосується насамперед цих приладів.

Розроблено специфікації на АФІ та допоміжні речовини. Вказані показники якості, що контролюються на вхідному контролі для кожної сировини.

Готовий лікарський препарат піддається ретельному контролю –бактеріологічному, біологічному й фармакологічному. Вказані методи контролю якості готових капсул доксицикліну. Готова продукція не допускається до реалізації доти, доки її якість не буде визнана задовільною.

Розроблено протоколи перспективної валідації технологічного процесу. Визначено об’єкт валідації, склад групи з валідації, критичні параметри та критерії прийнятності процесу.

**Публікації**. Прийнята участь у XІІ науково-практичній INTERNET-конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку», м. Харків, 22 травня 2020 р. та опубліковані тези «Дослідження профілів розчинення для оцінки альтернативного виробника активного фармацевтичного інгредієнту у складі лікарського засобу».

Стаття на тему “Порівняльні дослідження профілів вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул при зміні виробників діючої речовини” авторів: Салій О. О., Куришко Г. Г., Огеренко З. О., Гетало О. В. подана до редакції наукового журналу “Вісник Київського національного універститету технологій та дизайну”, яка буде опублікована у №3 (146) 2020 року.

**Ключові слова**: доксицикліну хіклат, фармацевтична розробка, капсули, антибіотики, тест «Розчинення», спектрофотометрія.