МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

|  |
| --- |
| Хімічних та біофармацевтичних технологій |
| (повне найменування інституту, назва факультету |
| Промислова фармація |
| (повна назва кафедри) |

РЕФЕРАТ

до дипломної магістерської роботи (проекту)

на тему: «Розробка технології отримання лікарського засобу ранозагоючої та стимулюючої дії»

|  |  |
| --- | --- |
| Виконала: | студентка групи МгХФ-19 |
| спеціальності | 226 «Фармація, промислова фармація» |
|  | (шифр і назва спеціальності) |
|  | Попова М. Е. |
|  | (прізвище та ініціали) |
| Керівник | Салій О.О. |
|  | (прізвище та ініціали) |
| Рецензент | Гетало О.В. |
|  | (прізвище та ініціали) |

Київ – 2020

**Актуальність теми.** Процес загоєння шкірних ран надзвичайно складний та залежить від взаємозв’язку низки факторів, що націлені на відновлення як бар’єрної так і репаративної функції шкіри. Стимулююча фармакотерапія спрямована на підвищення захисних сил і стимуляцію компенсаторних механізмів організму та є найменш розробленим видом лікарської терапії. Для стимуляції процесів регенерації використовують різні групи лікарських препаратів: вітамінні препарати, нестероїдні анаболічні засоби, біогенні стимулятори, імуномодулятори, неспецифічні стимулятори регенерації рослинного і тваринного походження, що володіють репаративною дією на пошкоджені тканини. Для повноцінного загоєння пошкодження шкірних покривів доцільно використання тканеспецифічних репарантів, що забезпечать постачання кисню до рани в достатній кількості, зокрема забезпечать кисневу напругу 20 мм рт.ст. Як ранозагоючі препарати стимулюючої дії застосовують лікарські форми місцевої дії у вигляді гелів, мазей, кремів і лініментів.

 Лікарям-клініцистам відомий депротеїнізований гемодериват крові телят (далі - ДГТК) в контексті лікування оклюзивностенотичних уражень артерій нижніх кінцівок, гнійних ран. Упродовж десятиріччя ДГТК успішно використовують лікарі різних спеціальностей: хірурги, дерматологи, гастроентерологи. ДГТК покращує процеси репарації та регенерації ушкоджених тканин та/або тканин, обмежених у достатній кількості поживних речовин; попереджає або зменшує вторинну дегенерацію і патологічні зміни в оборотно ушкоджених клітинних системах; прискорює синтез колагенів у моделях in vitro; стимулює проліферацію і міграцію клітин in vitro.

Але в Україні відсутні власні технології виробництва ДГТК. Зважаючи на достатню кількість поголів’я великої рогатої худоби в Україні є підґрунтя для створення нових лікарських засобів з діючою речовиною PDMPs із плазми ВРХ.

**Мета даної роботи** полягає в розробці технології отримання ДГКТ з сировини вітчизняного виробництва та створення м'якого лікарського засобу ранозагоючої та стимулюючої дії.

**Основні задачі дослідження**

1. Провести аналіз сучасного стану щодо розробки та виробництва лікарських засобів у формі гелю.

2. Провести аналіз сучасного стану фармацевтичного ринку лікарських засобів, отриманих з плазми крові людини та тварин.

3.Обгрунтувати та розробити оптимальний склад гелю на основі депротеінізованого гемодеривату крові телят.

4.Розробити технологічний процес гелю на основі депротеінізованого гемодеривату крові телят виробництва та запропонувати технологічну схему виробництва.

5.Підтвердити вибір обраного складу за допомогою дослідження проліферативних властивостей.

**Об’єкт дослідження*:***Діючою речовиною є комплекс біологічних низькомолекулярних речовин, що отриманий з крові великої рогатої худоби шляхом звільнення від високомолекулярних речовин з наступною ультрафільтрацією.

**Предмет дослідження***:*біофармацевтичні характеристики, фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості ДГКТ, розробка технології отримання ЛЗ.

**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.

**Наукова новизна роботи**. Вперше проведена фармацевтична розробка ЛЗ з діючою речовиною ДГКТ, отриманого з вітчизняних джерел КРС, та встановлено вимоги до фізико-хімічних властивостей активного інгредієнту. Визначено вплив фізико-хімічних факторів на реологічні властивості гелю ДГКТ.

**Практична цінність.**

Розроблені методики контролю якості готового лікарського засобу ранозагоюючої дії, розроблена технологія отримання ліофілізату діючої речовини, технологічний процес виготовлення гелю. Досліджена проліферативна активність отриманого ДГКТ.

**Висновки.** Встановлено, що кров є стратегічною сировиною для виробництва широкого спектру лікарських засобів.

Проведеними дослідженнями з’ясовано, що на фармацевтичному ринку України зареєстровано 14 біологічних лікарських засобів, отриманих з плазми крові тварин (з урахуванням форм випуску), що складають лише 14% від асортименту біологічних лікарських засобів, що містять діючі речовини, отримані з плазми крові людини та тварин. Дані лікарські препарати віднесено до наступних груп АТХ: [A01 “Засоби для застосування в стоматології](https://compendium.com.ua/uk/atc/A01/)”, А16 “Інші засобі, що впливають на травну система і метаболічні процеси”, D03 “[Засоби для лікування ран та виразкових уражень](https://compendium.com.ua/uk/atc/D03/)”, J06 “Лікувальні сироватки та імуноглобуліни”, [L04 “Імуносупресанти](https://compendium.com.ua/uk/atc/L04/)” та V03 “Всі інші”, і містять: антитимоцитарний глобулін кролячий, антитимоцитарний глобулін кінський та депротеїнізований гемодериват крові телят.

Незважаючи на достатню кількість поголів’я великої рогатої худоби (ВРХ), як джерела постачання крові, в Україні відсутні власні технології отримання PDMPs з крові ВРХ. ому, розробка технології отримання PDMPs вітчизняного виробництва, як активного фармацевтичного інгредієнту для створення нових біологічних лікарських засобів, є важливою та актуальною.

Встановлено, що до складу депротеінізованого гемодеривату крові телят входить понад 200 біологічно активних сполук, зокрема незамінні амінокислоти, біогенні аміни, поліаміни, сфінголіпіди, ейкозаноїди, гексози, лактат, сукцинат, холін, вітаміни, аденозинмонофосфат, ацетил карнітин, фосфоліпіди та ін. Доведено, що отриманий депротеїнізований діалізат із крові телят містить перспективні діючі речовини у терапії стимулуючої та ранозагоюючої дії для застосування у терапії різної етіології.

Для створення нових лікарських засобів ранозагоючої дії надзвичайно важливими є проведення біофармацевтичних досліджень, що встановлять кореляцію між такими фармацевтичними факторами як вплив допоміжних речовин, лікарської форми та технології виготовлення та біодоступністю та ефективністю дії ЛЗ. Компонентний склад гелю впливає на діючі речовини, а також на вивільнення активних речовин із складу та їх доставку до шкіри (утримання) та через шкіру (проникнення). Високомолекулярний або низькомолекулярний склад гелеутворювачів впливає на швидкість вивільнення діючих речовин з лікарської форми, а для збереження біоцидної активності гелів вибір антимікробних консервантів є критично важливим.

Визначено, що чисельними дослідженням як in vitro, так і in vivo була доведена клінічна ефективність ДГКТ.

Найбільш вірогідним механізмом ДГКТ на метаболізм клітин є транспорт глюкози в клітини. ДГКТ довела свою ефективність в лікуванні уражень артерій нижніх кінцівок, гнійних ран, стимулює проліферацію і міграцію клітин in vitro.

Встановлено, що технології підготовки до виділення низькомолекулярної фракції з крові телят значно відрізняються в залежності від виробників – спільним для всіх виробництв є вибір ультрафільтрації, як найефективнішого методу отримання низькомолекулярної фракції ДГКТ.

Розроблена оптимальна технологія отримання діючої речовини ДГКТ для розробки лікарського засобу ранозагоюючої та стимулюючої дії. Розроблена технологія отримання ДГКТ складається з чотирьох стадій – отримання сироватки, перед фільтрація, ультрафільтрація (де отриманий матеріал містить фракції розміром менше 5 кДа) та ліофілізація.

Встановлено, що для підготовки крові до стадії фільтрації доцільним є отримання сироватки крові телят з цільної крові, адже вміст високомолекулярних білків в еритроцитах вище, а низькомолекулярних речовин нижче, ніж в плазмі крові. До того ж використання крові з форменими елементами ускладнює технологію фільтрування препарату, спричинює швидке забруднення фільтрів і вимагає важких багатоступеневих етапів підготовки вихідної сировини для ультрафільтрації, а вплив пепсину впливає на біологічну активність кінцевого продукту.

Експериментальним шляхом визначено, що для здійснення стадії передфільтрації оптимальними є використання фільтрів з матеріалом мембрани PES, що не лише гарантує відповідність необхідним показникам якості, а й підвищує швидкість фільтрації та вихід сировини, що збільшує його економічну привабливість у промислових масштабах.

Встановлено, що регенерована целюлоза є підходящим матеріалом для проведення ультрафільтрації, а параметри ультрафільтрації 5000 x g, 30 хвилин, проба 12 мл є оптимальною для отримання депротеінізованого гемодеривату.

Визначені показники контролю якості ДГКТ, згідно вимог ДФУ - фізико-хімічні методи: визначення розчинності, рН, прозорості розчину, втрату в масі при висушуванні, біологічне випробування: мікробіологічна чистота, для визначення сили дії використовується методика визначення індексу проліферації за допомогою клітинного SPEV культивування

Згідно проведених досліджень мікробіологічної чистоти ДГКТ визначено, що отриманий зразок відповідає вимогам специфікації за показником «Мікробіологічна чистота».

Досліджені реологічні властивості трьох складів гелів за допомогою реометра обертального типу Brookfield DV-III Ultra з використанням шпинделя «конус-плита» досліджено структурно-механічні властивості та охарактеризовано реологічні та тиксотропні властивості досліджуваних зразків.

Встановлено, концентрація гелеутворювача впливає на структурно-механічні властивості дисперсних систем, що мають неньютонівський тип течі з певними пластичними та тиксотропними властивостями, що необхідно враховувати при фармацевтичній розробці лікарських засобів.

Одержані результати дозволяють підтвердити механічну стабільність системи для зразку 2 (концентрація гелеутворювача 1,8 %) в технологічному процесі виробництва при гомогенізації, а також спрогнозувати його стабільність при зберіганні та застосуванні споживачами.

Підібрані параметри первинного пакування для забезпечення якості продукту за умов його споживання.

Проведена розробка виробничого процесу отримання депротеінізованого гемодеривату крові телят, проведений вибір технологічного обладнання для виробництва гелю, розглянуті технологічні схеми виробництва проведення ліофільної сушки розчину ДГКТ і отримання м’якої лікарської форми у вигляді мазей.

Розроблені критерії прийнятності оцінки якості допоміжних речовин, був висвічений короткий опис технології отримання ліофілізату і отримання гелю ранозагоюючої дії.

Запропоновані критерії прийнятності контролю готового продукту.

**Рекомендації щодо використання одержаних результатів.** Результати дослідження можуть бути використані біофармацевтичними підприємствами, що займаються виготовленням лікарським засобів, зокрема виготовленням м’яких лікарських засобів, для розвитку підприємства і пристосування до сучасних умов ринку, для забезпечення розвитку фірми. Одержані результати науково-практичних досліджень є основою для оптимізації технологічних принципів для приготування м’якого лікарського засобу на основі депротеінізованого гемодеривату крові телят.

Дипломна магістерська робота (проект) складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел (71 найменувань) та додатків. Загальний обсяг магістерської роботи (проекту) 102 сторінок комп’ютерного тексту (без додатків). Додатків 3 на 18 стор, 12 рис., 18 табл., 2 формули.

 **Публікації.** Опубліковані тези «Розробка стадії фільтрації сироватки як етап отримання депротеїнізованого гемодеривату крові телят» (Участь у V-ій Міжнародній науково-практичної інтернет - конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (НФаУ, 26 листопада 2020р.);

Опубліковані тези «Technological aspects of deproteinized calf blood hemoderivative preparation» (Участь у міжнародній конференції для студентів фізики та природничих наук (м. Вільнюс) «63RD OPEN READINGS 2020» 20 березня 2020р.).

Опублікована стаття у фаховому журналі «Фармацевтичний журнал» МОЗ України, 2020р., №4. на тему «Дослідження на фармацевтичному ринку України асортименту біологічних лікарських засобів, що містять діючі речовини, отримані з плазми крові людини та тварин».

**Ключові слова:** *депротеінізований гемодериват крові телят, біологічні лікарські засоби, реологічні властивості гелю, стандартизація депротінізованого гемодеривату крові телят, розробка складу, технологія виробництва.*